

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN ZUR
QUALITÄT VON BUFFYCOAT - FREIEN
ERYTHROCYTENKONZENTRATEN

Reinhard Glanzer

1985

*Diss
München*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AUS DER III. MEDIZINISCHEN KLINIK

KLINIKUM GROSSHADERN

DER LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT

DIREKTOR: PROFESSOR DR. W. WILMANNS

TRANSFUSIONSZENTRUM MED. KLINIK III/BSO-BRK

LEITER: PROFESSOR DR. W. MEMPEL

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN ZUR QUALITÄT VON

BUFFYCOAT- FREIEN ERYTHROCYTENKONZENTRATEN

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE IN DER GESAMTEN MEDIZIN

AN DER LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT ZU MÜNCHEN

VORGELEGT VON

REINHARD GLANZER

AUS

POCKING

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter	:	Prof. Dr. W. Mempel
Mitberichterstatter	:	Prof. Dr. W. Wilmanns
Dekan	:	Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung :		28.1.1986

1. 1. 1944, 1. 1. 1945, 1. 1. 1946

2. 1. 1944, 1. 1. 1945, 1. 1. 1946

3. 1. 1944, 1. 1. 1945, 1. 1. 1946

4. 1. 1944, 1. 1. 1945, 1. 1. 1946

5. 1. 1944, 1. 1. 1945, 1. 1. 1946

6. 1. 1944, 1. 1. 1945, 1. 1. 1946

7. 1. 1944, 1. 1. 1945, 1. 1. 1946

8. 1. 1944, 1. 1. 1945, 1. 1. 1946
Beschreibung der Tätigkeit der Eltern und der Kinder
Beschreibung der Tätigkeit der Eltern und der Kinder

9. 1. 1944, 1. 1. 1945, 1. 1. 1946
Beschreibung der Tätigkeit der Eltern und der Kinder
Beschreibung der Tätigkeit der Eltern und der Kinder

10. 1. 1944, 1. 1. 1945, 1. 1. 1946

11. 1. 1944, 1. 1. 1945, 1. 1. 1946

12. 1. 1944, 1. 1. 1945, 1. 1. 1946

13. 1. 1944, 1. 1. 1945, 1. 1. 1946

14. 1. 1944, 1. 1. 1945, 1. 1. 1946

15. 1. 1944, 1. 1. 1945, 1. 1. 1946

16. 1. 1944, 1. 1. 1945, 1. 1. 1946

17. 1. 1944, 1. 1. 1945, 1. 1. 1946

18. 1. 1944, 1. 1. 1945, 1. 1. 1946

19. 1. 1944, 1. 1. 1945, 1. 1. 1946

INHALTSVERZEICHNIS

1. E i n l e i t u n g
2. M a t e r i a l u n d M e t h o d e n
 - 2.1. Untersuchungsmaterial
 - 2.1.1. Spender und Blutabnahme
 - 2.1.2. Transport und Lagerung
 - 2.1.3. Probenentnahme aus den Konserven
 - 2.2. Versuchsplanung
 - 2.2.1. Teil I -
Verhalten der Lagerungsparameter bei fünfwöchiger
Lagerung sowie nach Tiefkühlkonservierung
 - 2.2.2. Teil II -
Verfahrensbedingte Reduktion von Leukocyten,
Thrombocyten und Plasmaproteinen in Erythro-
cytenkonzentraten
 - 2.3. Methoden zur Erythrocytenkonzentratherstellung
 - 2.3.1. Standardmethode mittels Zentrifugation und Ab-
pressen des Überstandes
 - 2.3.2. Methoden zur gezielten Leukocyten- und Thrombo-
cytenreduktion
 - 2.3.2.1. 3maliges Waschverfahren mit 0,9 %iger Natrium-
chloridlösung
 - 2.3.2.2. Separation mit dem Trenngerät nach SCHNEIDER
 - 2.3.2.3. Automatische Filtration mit Cellulose-Acetat-
filtern
 - 2.3.2.4. Tiefkühlkonservierung mit glycerinarmer Gefrier-
lösung
 - 2.4. Meßmethoden
 - 2.4.1. Berechnung der Volumina der Konserven
 - 2.4.2. Leukocytenzählung

- 2.4.3. Thrombocytenzählung
- 2.4.4. Bestimmung der 2,3-Diphosphoglyceratkonzentration (2,3-DPG)
- 2.4.5. Plasmaproteinbestimmung im Konservenüberstand
- 2.4.6. Hämatokritbestimmung
- 2.4.7. Kaliumbestimmung
- 2.4.8. Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration (pH)
- 2.4.9. Hämoglobinbestimmung
- 2.4.10. Anfertigung und Auswertung der Differentialblutbilder
- 2.4.11. Bezeichnungen und Symbole

3. E r g e b n i s s e

- 3.1. Ergebnisse von Teil I -
Verhalten der Lagerungsparameter bei 5wöchiger Lagerung sowie nach Tiefkühlkonservierung
 - 3.1.1. Volumina der Blutkonserven und Erythrocytenverlust bei der Erythrocytenkonzentratherstellung
 - 3.1.2. Verhalten des Hämatokrits bei 5wöchiger Lagerung
 - 3.1.3. Verhalten der 2,3-Diphosphoglyceratkonzentration bei 5wöchiger Lagerung
 - 3.1.4. Verhalten der Wasserstoffionenkonzentration (pH) bei 5wöchiger Lagerung
 - 3.1.5. Verhalten der extrazellulären Kaliumkonzentration und der absoluten Kaliummenge pro Konserve bei 5wöchiger Lagerung
 - 3.1.6. Verhalten der Konzentration des freien Hämoglobins im Überstand bei 5wöchiger Lagerung
 - 3.1.7. Verhalten der Gesamtleukocytenzahl pro Konserve bei 5wöchiger Lagerung
 - 3.1.8. Veränderung der Lagerungsparameter durch 3maliges Waschen der Konserven mit 0,9 %iger Natriumchloridlösung am Ende der Lagerung
 - 3.1.9. Veränderung der Lagerungsparameter nach Tiefkühlkonservierung bei -196°C

- 3.2. Ergebnisse von Teil II -
Verfahrensbedingte Reduktion von Leukocyten,
Thrombocyten und Plasmaproteinen in Erythro-
cytenkonzentraten
- 3.2.1. Erythrocytenverlust bei der Herstellung der
Erythrocytenkonzentrate
- 3.2.2. Leukocyten-, Thrombocyten- und Plasmaprotein-
reduktion durch Waschverfahren mit 0,9 %iger
Natriumchloridlösung
- 3.2.3. Leukocyten-, Thrombocyten- und Plasmaprotein-
reduktion durch Separation mit dem Trenngerät
nach SCHNEIDER
- 3.2.4. Leukocyten-, Thrombocyten- und Plasmaprotein-
reduktion durch automatische Filtration mit
Cellulose-Acetatfiltern
- 3.2.5. Leukocyten-, Thrombocyten- und Plasmaprotein-
reduktion durch Tiefkühlkonservierung
- 3.2.6. Ergebnisse der Differentialblutbilder der
transfusionsfertigen Erythrocytenkonzentrate
- 4. D i s k u s s i o n d e r E r g e b n i s s e
- 4.1. Diskussion der Ergebnisse von Teil I -
Verhalten der Lagerungsparameter bei 5wöchiger
Lagerung sowie nach Tiefkühlkonservierung
- 4.1.1. Hämatokritstabilität und Leukocytenabfall bei
5wöchiger Lagerung
- 4.1.2. Abfall der 2,3-Diphosphoglyceratkonzentration
bei 5wöchiger Lagerung und dessen klinische
Bedeutung
- 4.1.3. pH-Abfall und Anstieg von extrazellulärem Ka-
lium und freiem Hämoglobin als wesentliche Be-
standteile des "metabolischen Risikos" und
dessen klinische Bedeutung
- 4.1.4. Qualität der tiefkühlkonservierten Erythro-
cytenkonzentrate im Vergleich zu konventionell
bei 4°C gelagerten Erythrocytenkonzentraten

- 4.2. Diskussion der Ergebnisse in Teil II -
Verfahrensbedingte Reduktion von Leukocyten,
Thrombocyten und Plasmaproteinen in Erythro-
cytenkonzentraten
- 4.2.1. Die nicht-hämolytische, febrile Transfusions-
reaktion als häufigste Indikation für die
Transfusion von leukocyten- und thrombocyten-
armen Erythrocytenkonzentraten
- 4.2.2. Weitere spezielle Indikationen für leuko-
cyten- und thrombocytenarme Erythrocytenkon-
zentrate
- 4.2.3. Zur Problematik der in-vitro-Beurteilung von
Verfahren zur Leukocyten- und Thrombocyten-
reduktion
- 4.2.4. Die allergische Reaktion auf Plasmaproteine
des Konservenbluts als Indikation für plasma-
proteinarme Erythrocytenkonzentrate
- 4.2.5. Gegenüberstellung der untersuchten Verfahren
zur Reduktion von Leukocyten, Thrombocyten
und Plasmaproteinen in Erythrocytenkonzen-
traten
- 4.2.5.1. In-vitro-Wirksamkeit des 3maligen Waschens
mit 0,9 %iger Natriumchloridlösung
- 4.2.5.2. In-vitro-Wirksamkeit der Separation mit dem
Trenngerät nach Schneider
- 4.2.5.3. In-vitro-Wirksamkeit der automatischen Filtra-
tion mit Cellulose-Acetatfiltern
- 4.2.5.4. In-vitro-Wirksamkeit der Tiefkühlkonservie-
rung mit glycerinarmer Gefrierlösung
- 4.2.5.5. Klinische Bedeutung der Ergebnisse

5. Zusammenfassung

6. Literaturverzeichnis

1. EINLEITUNG

Der gezielte Einsatz von Blutkomponenten anstelle des Vollblutes kennzeichnet seit einigen Jahren die transfusionsmedizinische Praxis. Naturgemäß steht dabei im Mittelpunkt das buffycoat-freie Erythrocytenkonzentrat, das in zunehmendem Maße den Großteil der Transfusionen bestreitet.

Hohe Anforderungen werden an die Qualität dieses Erythrocytenkonzentrats gestellt. Zwei prüfenswerte Aspekte zur Verbesserung der Qualität wurden untersucht:

Im ersten Teil der Untersuchungen war es Ziel festzustellen, inwieweit das Alter einer CPDA-1 Blutkonserve zum Zeitpunkt der Erythrocytenkonzentratherstellung die Qualität und das Lagerungsverhalten des Erythrocytenkonzentrats beeinflusst.

Die bei 5wöchiger Lagerung dabei gemessenen, biochemischen und hämatologischen Veränderungen wurden außerdem den entsprechenden Veränderungen in CPDA-1 Vollblutkonserven und in tiefkühlkonservierten Erythrocytenkonzentraten gegenübergestellt.

Im zweiten Teil wurden vier verschiedene Methoden zur Reduktion von Leukocyten und Thrombocyten in CPDA-1 Erythrocytenkonzentraten überprüft.

Transfundierte Leukocyten und Thrombocyten können durch Sensibilisierung beim Patienten zur febrilen, nicht-hämolytischen Transfusionsreaktion führen. Sie ist mit einer angegebenen Häufigkeit zwischen 0,5 % und 3,5 % aller Transfusionen (60, 61, 66, 69, 83) der häufigste Transfusionszwischenfall überhaupt. Daneben gibt es spezielle klinische Situationen, in denen leukocyten-, thrombocytenarme Erythrocytenkonzentrate indiziert sind.

Gleichzeitig sollte die Wirksamkeit dieser Verfahren zur Reduktion von Plasmaproteinen, die ebenfalls als Ursache für Unverträglichkeitsreaktionen gelten, untersucht werden.

Darüber hinaus war es Ziel zu klären, ob zusätzliche, dem Herstellungsverfahren nachfolgende Waschverfahren die Reduktionsergebnisse noch verbessern können.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Untersuchungsmaterial

2.1.1. Spender und Blutabnahme

Für das Untersuchungsmaterial von Teil I wurden Blutkonserven von gesunden Personalangehörigen des Großklinikums Großhadern sowie von Studenten verwendet.

Die Blutkonserven für Teil II wurden von einem örtlichen Blutspendedienst als Frischblutkonserven bezogen.

Das Blut wurde in CPDA-1 Blutbeuteln (CPDA-1 Blutbeutel, 500 ml Fassungsvermögen, 70 ml Stabilisatorlösung, Fa. Travenol, München) gesammelt.

Auf sorgfältige Vermischung mit der Stabilisatorlösung wurde geachtet.

100 ml Stabilisator enthalten:

300 mg	Citronensäure wasserfrei
2,63 g	Natriumcitrat 2 H ₂ O
2,90 g	Glucose wasserfrei
251 mg	Natriumdihydrogenphosphat 2 H ₂ O
27,5 mg	Adenin
Aqua ad iniectabilia ad 100 ml	

2.1.2. Transport und Lagerung

Die frisch entnommenen Blutkonserven von Teil I wurden teils in erschütterungsfreie Kühlschränke gestellt, die eine ständige Kühlung zwischen 4°C und 6°C gewährleisten, teils entsprechend der Versuchsplanung unmittelbar in Erythrocytenkonzentrate übergeführt und als solche gelagert.

Die Blutkonserven in Teil II wurden im Rahmen des routinemäßigen Zustelldienstes ungekühlt transportiert und anschließend ohne Zeitverlust der gekühlten Lagerung übergeben.

Aus diesen Konserven wurden je nach erwünschter Zeitspanne Erythrocytenkonzentrate nach den verschiedenen Präparationsmethoden hergestellt.

2.1.3. Probenentnahme aus den Konserven

Vor jeder Probenentnahme wurde das Gewicht der jeweiligen Konserve bestimmt.

Nach vorsichtigem Drehen und Schwenken des Inhalts über mindestens 3 Minuten erfolgte die Probenentnahme mit Hilfe einer halbautomatischen Presse unter einer sterilen Abzugseinheit. Das nicht vermischte Volumen im Entnahmeschlauch wurde verworfen.

Die Probenvolumina betrugen in Teil I ca. 10 ml für alle Messungen, in Teil II 5 ml für die Messungen im Zellanteil und 5 ml für die Messungen im Überstand. Letztere konnten wegen des hohen Hämatokrits nicht durch Zentrifugation eines Probenröhrchens gewonnen werden, sondern wurden aus dem Überstand gewonnen, der bei der Erythrocytenkonzentratherstellung zuletzt, unmittelbar vor der Verplombung der Konserve, abgepreßt worden war.

Die mechanische Manipulation an den Blutkonserven wurde auf ein Mindestmaß begrenzt.

2.2. Versuchsplanung

2.2.1. Teil I -

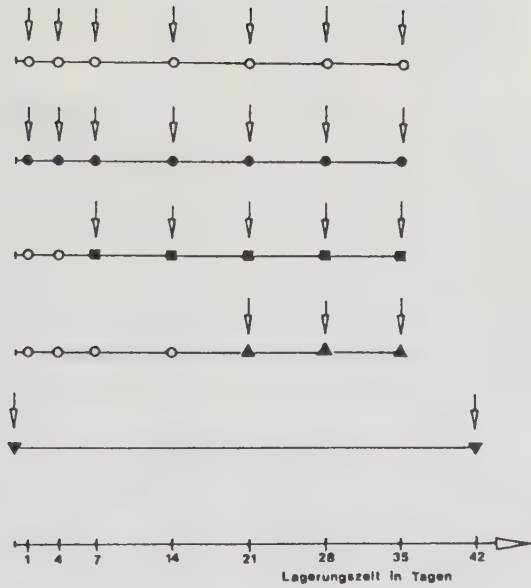
Verhalten der Lagerungsparameter bei fünfwöchiger Lagerung sowie nach Tiefkühlkonservierung

Bei einer Lagerungsdauer von 5 Wochen wurden von 40 Vollblutkonserven an den Tagen 0 (Tag der Blutentnahme), 7 und 21 jeweils 10 Konserven in Erythrocytenkonzentrate übergeführt (Abb. 1). 10 Konserven wurden unbehandelt als Vollblutkonserven während der gesamten Zeitspanne gelagert.

An den Tagen 1, 4, 7, 14, 21, 28 und 35 wurden stichprobenartig Proben für die Messungen entnommen. Am Tag 35 wurden zusätzlich jeweils 5 Vollblutkonserven und 5 Erythrocytenkonzentrate einem 3maligen Waschverfahren mit 0,9 %iger Natriumchloridlösung (NaCl) unterzogen und erneut getestet.

Außerdem wurden 10, am Tag 0 aus Vollblut gewonnene Erythrocytenkonzentrate bei -196°C in flüssigem Stickstoff eingefroren und nach einer Lagerungszeit von 6 bis 7 Wochen zu transfusionsfertigen Konserven aufbereitet und anschließend untersucht.

Im Probenmaterial wurde jeweils Hämatokrit, pH, Kalium und Hämoglobin im Überstand, 2,3-Diphosphoglycerat sowie die Leukozytenzahl bestimmt.



- O = Vollblutkonserven
- = am Lagerungstag 0 hergestellte Erythrocytenkonzentrate
- = am Lagerungstag 7 hergestellte Erythrocytenkonzentrate
- ▲ = am Lagerungstag 21 hergestellte Erythrocytenkonzentrate
- ▼ = tiefkühlkonservierte Erythrocytenkonzentrate
- ↓ = Probenentnahme und Messung

Abb. 1: Versuchsplanung von Teil I: 5 Versuchsreihen mit jeweils 10 Konserven

2.2.2 Teil II -

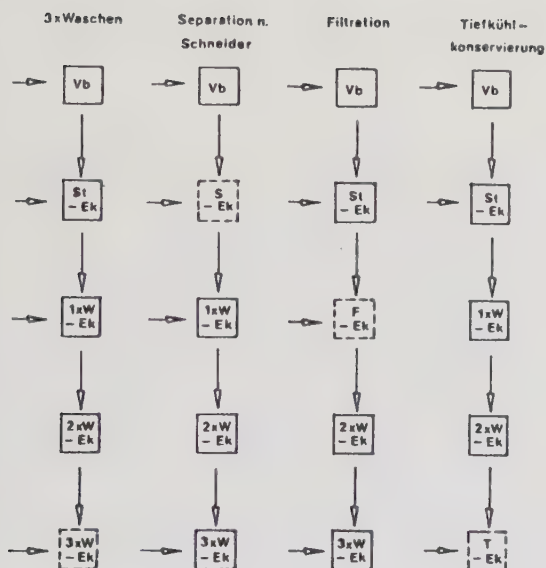
Verfahrensbedingte Reduktion von Leukocyten, Thrombocyten und Plasmaproteinen in Erythrocytenkonzentraten

Durch 3maliges Waschen mit 0,9 %iger Natriumchloridlösung, mit Hilfe des Trenngerätes nach SCHNEIDER sowie durch automatische Filtration wurden je 6, durch Tiefkühlkonservierung 8 leukocyten- und thrombocytenarme Erythrocytenkonzentrate erstellt und untersucht (Abb. 2).

Zusätzlich wurden die Erythrocytenkonzentrate nach SCHNEIDER 3mal, die gefilterten Erythrocytenkonzentrate 2mal mit 0,9 %iger Natriumchloridlösung gewaschen, ein Verfahren, das im routinemäßigen Transfusionsprogramm nicht üblich ist.

Messungen wurden durchgeführt im Vollblut, im Standarderythrocytenkonzentrat, das durch Zentrifugation und Abpressen des Plasmas gewonnen wurde, sowie in den leukocyten- und thrombocytenarmen Endprodukten.

Bestimmt wurden Leukocyten- und Thrombocytenzahl, Hämatokrit, Plasmaprotein und freies Hämoglobin im Überstand. Außerdem wurden Differentialblutbilder angefertigt.



→ = Probenentnahme und Messung

Vb = Vollblut

St-Ek = Standarderythrocytenkonzentrat

1xW-Ek = 1mal gewaschenes Erythrocytenkonzentrat

2xW-Ek = 2mal gewaschenes Erythrocytenkonzentrat

3xW-Ek = 3mal gewaschenes Erythrocytenkonzentrat

S-Ek = Erythrocytenkonzentrat nach Schneider

F-Ek = gefiltertes Erythrocytenkonzentrat

T-Ek = tiefkühlkonserviertes Erythrocytenkonzentrat

Abb. 2: Versuchsplanung von Teil II: 4 Versuchsreihen mit 6 bzw. 8 Konserven

2.3. Methoden zur Erythrocytenkonzentratherstellung

2.3.1. Standardmethode mittels Zentrifugation und Abpressen des Überstandes

Sämtliche Erythrocytenkonzentrate in Teil I sowie die Ausgangserythrocytenkonzentrate in Teil II erhielt man durch 15minütige Zentrifugation bei 2000 Umdrehungen pro Minute ($g = 700$) in einer Kühlzentrifuge ($t = 10^{\circ}\text{C}$) (Hettich Roto Magna K, Fa. Hettich, Tuttlingen).

Plasma und Buffycoat wurde an einem sterilen Arbeitsplatz sorgfältig entfernt. Das abgepreßte Plasmavolumen betrug in Teil I durchschnittlich 250,7 ml, in Teil II 280,9 ml, der Buffycoat umfaßte 30,6 ml beziehungsweise 25,1 ml.

In Teil I wurden, um den bekannten ungünstigen Effekt eines hohen Hämatokrits zu vermeiden, die Erythrocytenkonzentrate durch Rückführung von 30 bis 50 ml des buffycoat-freien Plasmas auf einen Hämatokrit von 70 % eingestellt. In Teil II resultierten Erythrocytenkonzentrate mit einem Hämatokrit von 86,5 %.

2.3.2. Methoden zur gezielten Leukocyten- und Thrombocytenreduktion

2.3.2.1. 3maliges Waschverfahren mit 0,9 %iger Natriumchloridlösung

Die Erythrocytenkonzentrate wurden mit physiologischer Natriumchloridlösung aufgefüllt, sorgfältig vermischt und analog zu Punkt 2.3.1. zentrifugiert. Abpressen des Überstandes mitsamt eines kleinen Randsaums der obersten Erythrocytenschicht beendete den Arbeitsvorgang.

Dieses Waschverfahren wurde insgesamt 3mal durchgeführt. Der Hämatokrit stieg dabei von 87,2 % bei den 1mal gewaschenen auf 90,4 % bei den 3mal gewaschenen Erythrocytenkonzentraten.

2.3.2.2. Separation mit dem Trenngerät nach SCHNEIDER

Entsprechend den Literaturangaben (88) wurden Vollblutkonserven nach einer Lagerung von 20 bis 50 Stunden zunächst für 1 Stunde bei 37°C in einem Brutschrank vorgewärmt. Nach 10minütiger, kopfstehender Zentrifugation bei 3000 Umdrehungen pro Minute ($g = 1350$) wurde leukocyten-, thrombocytenarmes Sediment von Buffycoat und dem überstehenden Plasma mit Hilfe des Trenngerätes (Fa. Biotest, Frankfurt) separiert und in einen Transfer-Beutel (Fenwal Transfer Pack, 600 ml Fassungsvermögen) abgeleitet.

Da beim Trennungsvorgang ein manuell ausgeübter Gegendruck auf den oberen Beutelanteil ausgeübt werden muß, damit also eine gewisse individuelle Fertigkeit notwendig ist, wurde in Vorversuchen der Umgang mit dem Trenngerät und die Präparation zunächst ausgiebig erprobt. Außerdem wurden sämtliche Präparate von einer einzigen Person erstellt, um in dieser Hinsicht eine gleichbleibende Qualität zu gewährleisten.

Der Hämatokrit der Erythrocytenkonzentrate betrug 91,5 %, das zurückbleibende Plasmavolumen inklusive Buffycoat belief sich auf 282,5 ml.

2.3.2.3. Automatische Filtration mit Cellulose-Acetatfiltern

Zur Filterung wurde das automatische Einwegfiltersystem Erypur-Prestomat (Fa. Organon Teknika, Boxtel/Holland)

mit einem Cellulose-Acetatfilter (Erypur) eingesetzt.

Ausgangsmaterial war dazu ein bereits relativ buffycoat-armes Erythrocytenkonzentrat, das analog zu Punkt 2.3.1. gewonnen wurde.

Dieses Erythrocytenkonzentrat wurde mit dem Einwegfiltersystem und einem Beutel mit 0,9 %iger Natriumchloridlösung verbunden und anschließend, nach Durchspülen des Filtersystems und Aufschwemmen der Erythrocyten mit der Kochsalzlösung, automatisch gefiltert. Nach Filtration wurde der Beutel mit den suspendierten Erythrocyten kurz manuell vermischt, zentrifugiert gemäß Punkt 2.3.1., und der Überstand an Natriumchloridlösung wurde wiederum abgehoben. Der Hämatokrit belief sich auf 90,2 %.

2.3.2.4. Tiefkühlkonservierung mit glycerinarmer Gefrierlösung

Zur Tiefgefrierung wurde als Gefrierzusatz eine 38 %ige Glycerinstammlösung und Flüssigstickstoff mit einer Temperatur von -196°C verwendet. Der Einfriervorgang selbst beanspruchte 10 Minuten ("low-dose-high-speed"-Tiefgefrierung).

Aus den bezogenen Konserven wurden nach maximaler Lagerung von 3 Tagen die üblichen Erythrocytenkonzentrate laut Punkt 2.3.1. gewonnen. Unter gleichzeitiger, tropfenweiser Zugabe von glycerinhaltiger Gefrierlösung (Ery-Gefrierlösung, 300 ml, BRK-Blutspendedienst, Wiesentheid) im Volumenverhältnis von 1:1 wurden die Erythrocytenkonzentrate in einem Gambro-Beutel (Gambro Hemofreeze Bag, Fa. Gambro Dialysatoren, Hechingen) übergeleitet. Eine Schwenkplatte sorgte für ständige Durchmischung, überschüssige Luft wurde aus dem Beutel herausgedrückt, und der Beutelrand wurde zugeschweißt. Eingespannt zwischen 2 Aluminiumplatten wurde der Beutel dann für 10 Minuten in einem Ge-

friertopf mit Flüssigstickstoff tiefgefroren. Abschließend wurde der Beutel in Lagertöpfen abgestellt.

Zum Auftauen wurde die Konserve für 10 bis 15 Minuten in ein Wasserbad mit 40°C Temperatur gestellt. Der aufgetaute Beutelinhalt wurde in einen Transfer-Beutel (Fenwal, Transfer Pack, 600 ml Fassungsvermögen) übergeführt und wiederum zentrifugiert (1500 U/min, $t = 20$ min, $g = 400$, $T = 25^{\circ}\text{C}$) mit abschließendem Abpressen der Gefrierlösung. Daran schloß sich das Waschverfahren an, zunächst mit einer Erythrocytenwaschlösung (Ery-Waschlösung, 300 ml, BRK-Blutspendedienst, Wiesentheid), beim zweiten und dritten Mal mit 0,9 %iger Natriumchloridlösung.

Die transfusionsfertigen Erythrocytenkonzentrate besaßen einen durchschnittlichen Hämatokrit von 87,1 %.

2.4. Meßmethoden

2.4.1. Berechnung der Volumina der Konserven

Vor der jeweiligen Probenentnahme wurde das Bruttogewicht der Konserve bestimmt. Bei Kenntnis des Leergewichts des Beutels (35 g), des spezifischen Gewichts der Erythrocyten ($\gamma = 1,0694 \text{ g/cm}^3$) und des Plasmas ($\gamma = 1,0269 \text{ g/cm}^3$) sowie des Hämatokrits ließ sich daraus das Volumen des Konserveninhalts ermitteln.

Da sich die spezifische Dichte des Stabilisators nur wenig von der des Plasmas unterscheidet, wurde das Stabilisatorvolumen (70 ml) dem Plasmavolumen zugerechnet.

Mittels des Hämatokrits konnte außerdem der Erythrocyten- und Plasmaanteil jeder Konserve berechnet werden. Durch Vergleich der Erythrocytenvolumina vor und nach der Erythrocytenkonzentratherstellung ergab sich deren verfahrensbedingter Verlust.

2.4.2. Leukocytenzählung

Eine Blutprobe (Volumenmarke 0,5) wurde in der Leukocytenpipette mit 3 %iger Essigsäure im Verhältnis 1:20 verdünnt und ausgiebig durch einen Rotor vermischt. Die Auszählung erfolgte in der Neubauer-Kammer mit einem Lichtmikroskop (Phasenkontrastmikroskop, Fa. Zeiss). Ausgezählt wurden 4 Felder, bei sehr leukocytenarmen Proben wurde eine weitere Kammer gefüllt, und die Zahlen aus beiden Kammern wurden summiert. Durch Multiplikation mit dem Faktor 50, bzw. 25 bei leukopenischen Proben, sowie aus dem Mittelwert von Doppelbestimmungen ergab sich die endgültige Leukocytenzahl pro μl Probenvolumen.

Es wurde bei jeder Meßreihe ein Kontrollblut (Fa. Asid Diagnostika, Unterschleißheim) mitgeführt.

2.4.3. Thrombocytenzählung

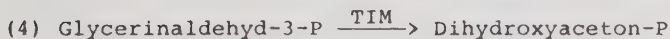
Eine Blutprobe (50 μl) wurde in ein Teströhrchen mit gebrauchsfertiger Lösung (Thromboplus, Fa. Sarstedt, Nümbrecht-Rammelsdorf) in einer Verdünnung von 1:40 vorgegeben, in eine Neubauer-Kammer gefüllt und für mindestens 10 Minuten in eine feuchte Kammer zur Sedimentation gegeben. Die Zahl der Thrombocyten pro 5 Erythrocytenfelder multipliziert mit Faktor 2000, in thrombopenischen Proben die Zahl pro 2 Eckquadrate multipliziert mal 200, lieferten die Thrombocytenzahl pro μl Probenvolumen.

Doppelbestimmungen und Kontrollblutmessungen wurden durchgeführt.

2.4.4. Bestimmung der 2,3-Diphosphoglyceratkonzentration (2,3-DPG)

Die Konzentration des intraerythrocytären 2,3-Diphosphoglycerats wurde mit Hilfe des UV-Tests (Fa. Boehringer Biochemica, Mannheim) nach Ericson und de Verdier (30) enzymatisch bestimmt. Gemessen wurde in einem Spektralphotometer (Spektralphotometer Model 35, Fa. Beckmann Instruments, Fullerton/USA) bei 344 nm.

Folgende enzymatische Reaktionsketten liegen dem Test zugrunde:



(PGM = Phosphoglyceratmutase, PG = Phosphoglycerat, PGK = Phosphoglyceratkinase, GAPDH = Glycerinaldehydphosphatdehydrogenase, TIM = Triosephosphatisomerase, GDH = Glycerinphosphatdehydrogenase)

Durch Multiplikation mit dem Faktor 11,70 sowie dem Quotienten aus 100 und dem Hämatokritwert ergab sich die 2,3-DPG-Konzentration in mmol/l Erythrocytenvolumen (mmol/l Ery).

2.4.5. Plasmaproteinbestimmung im Konservenüberstand

Bei hohen Proteinkonzentrationen, wie im Vollblut und im Standarderythrocytenkonzentrat, erfolgte die Bestimmung nach der Biuret-Methode (Testomar-Protein, Fa. Behringwerke, Marburg). Bei niedrigen Proteinkonzentrationen wurde zur Messung die hochempfindliche Methode nach Lowry (7, 57) benützt. Beide Verfahren liefern bekanntermaßen gut miteinander vergleichbare Werte.

Von besonderem Interesse war in Teil II die Frage, ob in den transfusionsfertigen, zum Teil gewaschenen Erythrocytenkonzentraten noch Plasmaproteine nachweisbar sind, oder ob diese durch die Präparation vollständig entfernt wurden.

Bedingt durch eine geringfügige, jedoch nachweisbare Hämolyse im Überstand der Erythrocytenkonzentrate, vor allem in den tiefgefrorenen Konserven, erhielt man jedoch bei der Messung der Plasmaproteine falsch hohe Werte.

Zur Korrektur wurde zunächst in Vorversuchen bei Hämolysaten mit bekannter Hämoglobinkonzentration die Proteinkonzentration gemessen und eine Eichgerade bestimmt. Bei Kenntnis der Konzentration des freien Hämoglobins im Überstand der Probe berechnete sich die tatsächliche Plasmaproteinkonzentration aus dem im Lowry-Test gemessenen Gesamtprotein minus dem auf das freie Hämoglobin entfallenden Proteinanteil.

Die absolute Menge des Plasmaproteins pro Transfusions-einheit (mg/Konserve) ergab sich aus der Konzentration und dem Volumen des Plasmas bzw. Überstandes in der Konserve.

2.4.6. Hämatokritbestimmung

Der Hämatokrit wurde bestimmt nach der Mikrohämatokritmethode (Capilets Microhematocrit Tubes, Fa. Dade Division,

Miami/USA und Hämatokrit Zentrifuge, Fa. Hettich, Tuttlingen) anhand von Doppelbestimmungen. Kontrollblutmessungen wurden jeweils mitgeführt.

2.4.7. Kaliumbestimmung

Die Messung der Kaliumkonzentration im Plasma und im Konservenüberstand erfolgte spektralphotometrisch bei 580 nm mit Hilfe des Trübungstestes nach Hillmann und Beyer (41) unter Verwendung eines käuflichen Testansatzes (Kalium rapid, Fa. Boehringer, Ingelheim).

In den älteren Konserven lagen die Kaliumkonzentrationen außerhalb des Meßbereichs. Deshalb wurden deren Probenvolumina mit Natriumchloridlösung verdünnt, und das Ergebnis der Kaliumbestimmung mit dem jeweiligen Verdünnungsfaktor wieder multipliziert.

Die Messungen wurden mittels Kontrollseren überprüft. Der Gehalt an Kalium pro Konserve (mmol/Konserve) berechnete sich aus der Konzentration im Überstand mal dem nach Punkt 2.4.1. ermittelten Überstandsvolumen.

2.4.8. Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration (pH)

Mit Hilfe eines Digital-pH-Meters (CG 803, Fa. Schott/Jenaer Glaswerke, Mainz) wurde die Wasserstoffionenkonzentration im Probenvolumen bestimmt. Die Messung erfolgte bei Raumtemperatur. Eine Eichung des pH-Meters stand zu Beginn jeder Meßreihe.

2.4.9. Hämoglobinbestimmung

Das in den Konservenüberstand freigesetzte Hämoglobin wurde mittels der Bestimmungsmethode nach Van Kampen und Zijlstra (104) gemessen (Testomar-Hämoglobin Fertigreagenz, Fa. Behring, Marburg).

Durch Kaliumhexacyanferrat-(III) und Kaliumcyanid wird Hämoglobin in Hämglobincyanid übergeführt, dessen Extinktion wird bei 540 nm spektralphotometrisch bestimmt. Probe und Testreagenz wurden in der Verdünnung von 1:50 miteinander vermischt, um bei den zu erwartenden niedrigen Konzentrationen die Empfindlichkeit der Methode nicht zu überfordern. Durch Multiplikation mit dem Faktor 7,36 erhielt man den Endwert in mg/100 ml Überstand.

2.4.10. Anfertigung und Auswertung der Differentialblutbilder

In Teil II wurden von den transfusionsfertigen Konserven Blutaussstriche angefertigt.

Bei den Konserven mit sehr hoher Viskosität (HK 80 %) wurde die Probe zunächst mit 0,9 %iger Natriumchloridlösung im Verhältnis 1:1 vermischt, und erst dann ein Tropfen auf dem Objektträger ausgestrichen.

Es folgte Fixation mit Alkohol (Fixierlösung Differentialblutbild, Fa. Merz u. Dade, Düdingen) und Schnellfärbung (Färbelösung 1 und 2 Differentialblutbild, Fa. Merz u. Dade, Düdingen).

Die getrockneten Ausstriche wurden mikroskopisch beurteilt, wobei nur Zellen gezählt wurden, die intakt erschienen und sich morphologisch eindeutig zuordnen ließen.

2.4.11. Bezeichnungen und Symbole

Die Auswertung erfolgte auf einem Hewlett-Packard HP-31E Rechner. Auf eine genaue statistische Analyse wurde bei den kleinen Fallzahlen verzichtet.

Die Bezeichnungen im Text und in den Tabellen bedeuten:

- n = Stichprobenumfang
- $\bar{x}$ = Mittelwert der Stichprobe
- s = Standardabweichung

Die Symbole in den Abbildungen von Teil I bedeuten:

- o = Vollblutkonserven (Vb)
- = am Lagerungstag 0 hergestellte Erythrocytenkonzentrate (EK 0)
- = am Lagerungstag 7 hergestellte Erythrocytenkonzentrate (EK 7)
- ▲ = am Lagerungstag 21 hergestellte Erythrocytenkonzentrate (EK 21)

3. ERGEBNISSE

3.1. Ergebnisse von Teil I - Verhalten der Lagerungsparameter bei 5wöchiger Lagerung sowie nach Tiefkühlkonservierung

3.1.1. Volumina der Blutkonserven und Erythrocytenver- lust bei der Erythrocytenkonzentratherstellung

Bei den Vollblutkonserven belief sich der Beutelinhalt auf 612,30 ml ($s = 22,48$ ml) mit einem Erythrocytenanteil von 234,01 ml ($s = 14,67$ ml) (Tab. 1).

Die analog Punkt 2.3.1. gewonnenen Erythrocytenkonzentrate besaßen ein Volumen von 306,21 ml ($s = 31,54$ ml) bei einem Erythrocytenvolumen von 201,74 ml ($s = 25,0$ ml).

Für die tiefkühlkonservierten Erythrocytenkonzentrate ergab sich ein durchschnittliches Gesamtvolumen von 173,91 ml ($s = 15,90$ ml) und ein Zellvolumen von 153,97 ml ($s = 10,72$ ml).

Bei der Herstellung der Erythrocytenkonzentrate mittels Standardmethode gingen 21,93 ml (9,81 %) an Erythrocyten verloren.

Für die tiefkühlkonservierten Erythrocytenkonzentrate errechnete sich ein Verlust von 47,87 ml (23,73 %) Erythrocyten vom Erythrocytenanteil des Standarderythrocytenkonzentrats aus gesehen und von 69,80 ml (32,66 %) vom Erythrocytenanteil des Vollbluts aus.

Tab. 1: Volumina der Blutkonserven und Erythrocytenverlust bei der Erythrocytenkonzentratherstellung in Teil I

		Vb	St-Ek	T-Ek
$V_{ges.}$ (ml)	$\bar{v}$ (s)	612,30 (22,48)	306,21 (31,54)	173,91 (15,90)
V_{ery} (ml)	$\bar{v}$ (s)	234,01 (14,67)	201,74 (25,00)	153,97 (10,72)
Ery- verlust (ml)	$\bar{v}$ t	- -	21,93 9,81	69,80 32,66

Bezeichnungen:

- $V_{ges.}$ = Gesamtvolumen der Konserven
- V_{ery} = Volumen des Erythrocytenanteils der Konserven
- Vb = Vollblutkonserve
- St-Ek = Standarderythrocytenkonzentrat
- T-Ek = tiefkühlkonserviertes Erythrocytenkonzentrat

3.1.2. Verhalten des Hämatokrits bei 5wöchiger Lagerung

Für die Vollblutkonserven ergab sich zu Beginn der Lagerung ein durchschnittlicher Hämatokrit von 38,2 % ($s = 4,7$ %), nach Abschluß der Lagerung betrug der Hämatokrit 39,8 % ($s = 3,4$ %). Ein Abfall des Hämatokrits wurde somit nicht beobachtet (Tab. 2 und Abb. 3).

Bei den am Tag 0 erstellten Erythrocytenkonzentraten lauteten die entsprechenden Werte 71,0 % ($s = 4,2$ %) am Tag 1 bzw. 70,1 % ($s = 3,5$ %) am Tag 35.

Bei den Konserven, aus denen nach 1wöchiger Lagerung Erythrocytenkonzentrate gewonnen wurden, lag der Hämatokrit bei 71,0 % ($s = 3,9$ %) am Tag 7 und 70,1 % ($s = 4,9$ %) am Tag 35.

Mit 67,9 % ($s = 3,6$ %) am Tag 21 und 64,1 % ($s = 3,8$ %) am Tag 35 wiesen die Erythrocytenkonzentrate, die erst nach 3wöchiger Lagerung entstanden waren, die niedrigsten Hämatokritwerte auf.

Tab. 2: Hämatokrit in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer (8)

Lagerungs- tag	Vb		Ek 0		Ek 7		Ek 21	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	38,2	4,7	71,0	4,2				
4	38,7	3,1	69,8	2,7				
7	34,9	5,3	69,7	3,3	71,0	3,9		
14	38,3	3,9	67,7	4,5	70,1	4,1		
21	39,8	3,1	69,9	2,7	70,7	3,1	67,9	3,6
28	39,2	3,0	67,2	3,8	68,5	4,0	64,9	4,4
35	39,8	3,4	70,1	3,5	70,1	4,9	64,1	3,8

Bezeichnungen:

- Vb = Vollblutkonserven
- Ek 0 = am Lagerungstag 0 hergestellte Erythrocyten-konzentrate
- Ek 7 = am Lagerungstag 7 hergestellte Erythrocyten-konzentrate
- Ek 21 = am Lagerungstag 21 hergestellte Erythrocyten-konzentrate

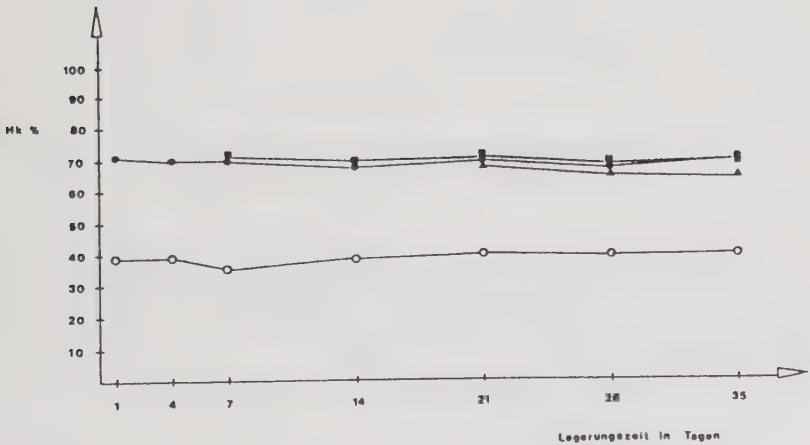


Abb. 3 : Hämatokrit in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer

3.1.3. Verhalten der 2,3-Diphosphoglyceratkonzentration bei 5wöchiger Lagerung

Während der 5wöchigen Lagerung kam es sowohl im Vollblut als auch in den Erythrocytenkonzentraten zu einem starken Abfall der Konzentration des 2,3-Diphosphoglycerats (Tab. 3 und Abb. 4).

Die Konzentration an den jeweiligen Stichtagen war in Vollblutkonserven wie auch in Erythrocytenkonzentraten in etwa gleich, so daß graphisch ein paralleler Abfall der Konzentrationen resultierte.

Besonders rasch sank die Konzentration des 2,3-Diphosphoglycerats in den ersten 2 Wochen.

Am Tag 7 betrug die Konzentration in den Vollblutkonserven 2,35 mmol/l Ery ($s = 0,86$ mmol/l Ery), das sind 53,28 % des Ausgangswertes. In den Erythrocytenkonzentraten lag sie zu diesem Zeitpunkt bei 2,21 mmol/l Ery (50,80 %, $s = 0,89$ mmol/l Ery). Nach 2 Wochen waren in den Vollblutkonserven nur noch 0,43 mmol/l Ery (9,75 %, $s = 0,35$ mmol/l Ery) und in den Erythrocytenkonzentraten noch 0,38 mmol/l Ery (8,74 %, $s = 0,22$ mmol/l Ery) meßbar.

Nach 3wöchiger Lagerung waren in allen Konserven nur mehr minimale Konzentrationen unter 0,1 mmol/l Ery feststellbar.

Bei den an den Tagen 7 und 21 erstellten Erythrocytenkonzentraten verhielt sich die 2,3-Diphosphoglyceratkonzentration nahezu identisch zu den Erythrocytenkonzentraten mit Herstellungstag 0.

Tab. 3: 2,3-Diphosphoglyceratkonzentration in mmol/l Ery
in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer

Lage- rungs- tag	Vb		Ek 0		Ek 7		Ek 21	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	4,41	0,49	4,35	0,69				
4	4,14	0,82	4,01	0,77				
7	2,35	0,86	2,21	0,89	2,28	0,79		
14	0,43	0,35	0,38	0,22	0,25	0,14		
21	0,15	0,08	0,07	0,05	0,06	0,03	0,11	0,09
28	0,15	0,06	0,08	0,05	0,08	0,05	0,11	0,04
35	0,14	0,11	0,06	0,07	0,07	0,04	0,07	0,05

Bezeichnungen:

- Vb = Vollblutkonserven
- Ek 0 = am Lagerungstag 0 hergestellte Erythrocytenkonzentrate
- Ek 7 = am Lagerungstag 7 hergestellte Erythrocytenkonzentrate
- Ek 21 = am Lagerungstag 21 hergestellte Erythrocytenkonzentrate

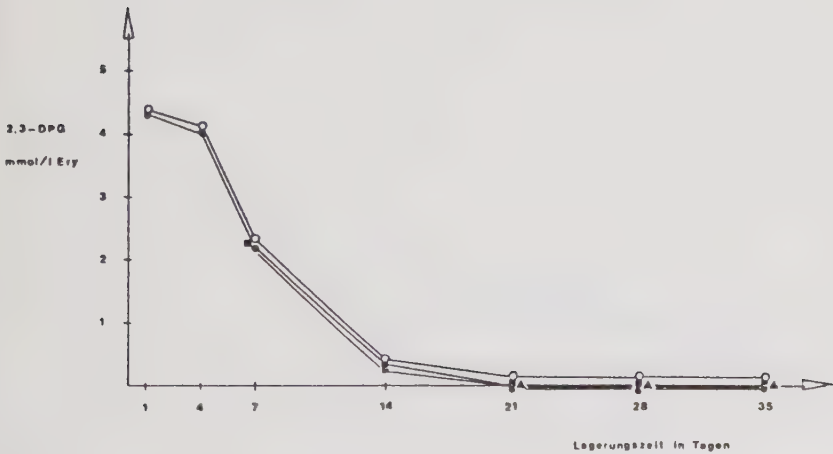


Abb 4: 2,3-Diphosphoglyceratkonzentration in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer

3.1.4. Verhalten der Wasserstoffionenkonzentration (pH) bei 5wöchiger Lagerung

Sowohl in den Vollblutkonserven als auch in den Erythrocytenkonzentraten war ein kontinuierlicher Abfall des pH-Wertes während der 5wöchigen Lagerung zu verzeichnen (Tab. 4 und Abb. 5).

Bei den Vollblutkonserven fiel der pH-Wert von 7,29 ($s = 0,09$) zu Beginn der Lagerung auf 6,79 ($s = 0,06$) nach 3 Wochen und 6,63 ($s = 0,06$) nach 5 Wochen Lagerung.

Bei den Erythrocytenkonzentraten, die über 5 Wochen gelagert wurden, war der Abfall von 7,24 ($s = 0,05$) am Tag 1 über 6,73 ($s = 0,05$) am Tag 21 auf 6,61 ($s = 0,05$) am Tag 35 ähnlich. Die später am Tag 7 bzw. am Tag 21 erstellten Erythrocytenkonzentrate wiesen nur geringfügig andere pH-Werte auf.

In den Vollblutkonserven war der durchschnittliche pH-Wert während der Lagerungszeit damit geringfügig alkalischer.

Tab. 4: pH in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer

Lagerungs- tag	Vb		Ek 0		Ek 7		Ek 21	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	7,29	0,09	7,24	0,05				
4	7,14	0,05	7,16	0,03				
7	7,06	0,05	7,03	0,06	7,04	0,02		
14	6,90	0,08	6,84	0,04	6,83	0,03		
21	6,79	0,06	6,73	0,05	6,74	0,06	6,78	0,05
28	6,71	0,06	6,65	0,04	6,64	0,03	6,68	0,08
35	6,63	0,06	6,61	0,05	6,59	0,05	6,64	0,06

Bezeichnungen:

- Vb = Vollblutkonserven
- Ek 0 = am Lagerungstag 0 hergestellte Erythrocyten-konzentrate
- Ek 7 = am Lagerungstag 7 hergestellte Erythrocyten-konzentrate
- Ek 21 = am Lagerungstag 21 hergestellte Erythrocyten-konzentrate

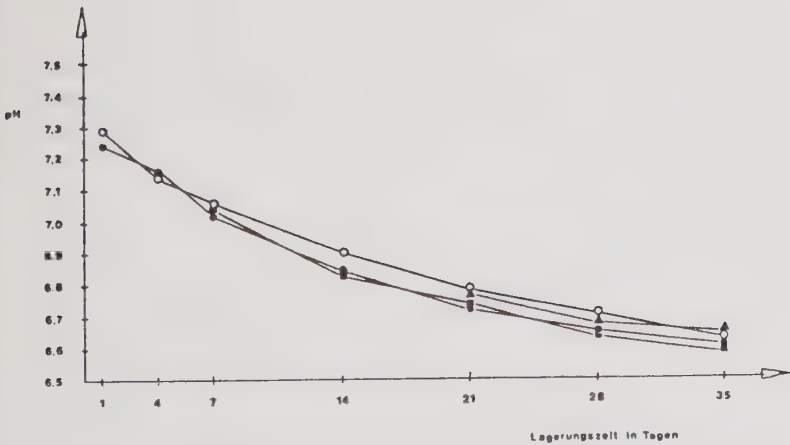


Abb 5: pH in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer

3.1.5. Verhalten der extrazellulären Kaliumkonzentration und der absoluten Kaliummenge pro Konserve bei 5wöchiger Lagerung

In den Vollblutkonserven stieg die Konzentration des Plasmakaliums gleichmäßig (Tab. 5 und Abb. 6).

Bei einem Ausgangswert von 5,28 mmol/l ($s = 0,56$ mmol/l) erreichte sie nach 5 Wochen einen Wert von 29,73 mmol/l ($s = 4,32$ mmol/l).

In den Erythrocytenkonzentraten war die Konzentration des Kaliums mit 9,34 mmol/l ($s = 2,71$ mmol/l) von Beginn an höher und stieg wesentlich steiler an bis zu einem Endwert von 76,10 mmol/l ($s = 11,49$ mmol/l).

Für die am Tag 7 gewonnenen Erythrocytenkonzentrate belief sich die Kaliumkonzentration bei Herstellung auf 13,42 mmol/l ($s = 1,18$ mmol/l), am Tag 35 auf 61,70 mmol/l ($s = 10,65$ mmol/l). Für die am Tag 21 erstellten Erythrocytenkonzentrate lauteten die entsprechenden Werte 22,54 mmol/l ($s = 3,50$ mmol/l) und 40,39 mmol/l ($s = 4,63$ mmol/l).

Damit fanden sich, abhängig vom Zeitpunkt der Erythrocytenkonzentratherstellung, stufenweise niedrigere Kaliumkonzentrationen in den später gewonnenen Erythrocytenkonzentraten.

Tab. 5: Extrazelluläre Kaliumkonzentration in mmol/l in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer

Lagerungs- tag	Vb		Ek 0		Ek 7		Ek 21	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	5,28	0,56	9,34	2,71				
4	8,17	1,73	18,13	5,59				
7	12,83	2,45	22,48	5,74	13,42	1,18		
14	18,25	3,11	40,53	8,89	29,99	3,16		
21	20,19	1,69	51,21	9,35	37,40	10,24	22,54	3,50
28	26,57	2,61	62,11	8,19	50,01	5,86	32,29	5,62
35	29,73	4,32	76,10	11,49	61,70	10,65	40,39	4,63

Bezeichnungen:

- Vb = Vollblutkonserven
- Ek 0 = am Lagerungstag 0 hergestellte Erythrocytenkonzentrate
- Ek 7 = am Lagerungstag 7 hergestellte Erythrocytenkonzentrate
- Ek 21 = am Lagerungstag 21 hergestellte Erythrocytenkonzentrate

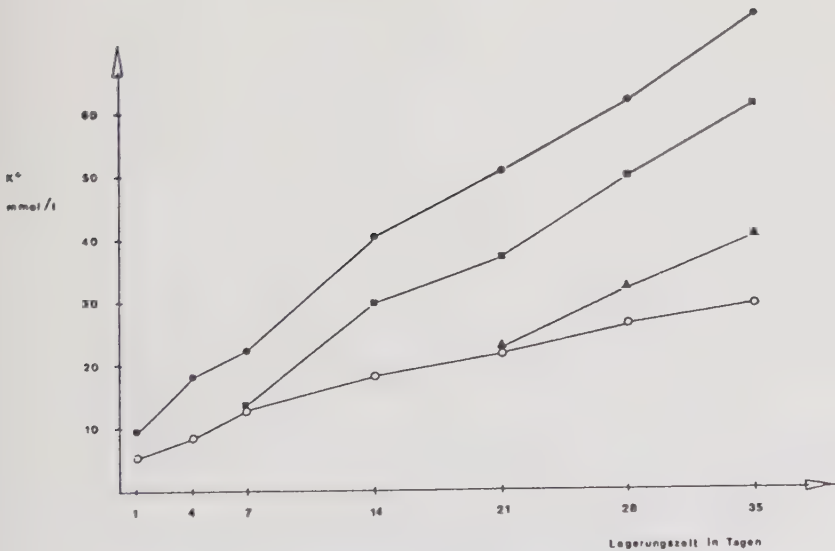


Abb. 6: Kaliumkonzentration in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer

Hinsichtlich der absoluten Kaliummenge pro Konserve erhielt man das umgekehrte Bild (Tab. 6 und Abb. 7):

Die Kaliummenge betrug in den Vollblutkonserven zu Beginn 2,10 mmol pro Konserve ($s = 0,32$ mmol/Konserve), in den Erythrocytenkonzentraten mit Herstellungstag 0 0,97 mmol pro Konserve ($s = 0,31$ mmol/Konserve). Nach 5 Wochen lagen die Werte bei 10,99 mmol pro Konserve ($s = 1,57$ mmol/Konserve) in den Vollblutkonserven und 7,30 mmol pro Konserve ($s = 1,75$ mmol/Konserve) in den Erythrocytenkonzentraten. Letztere enthielten an den jeweiligen Meßtagen somit nur etwa 50 % bis 65 % des freien Kaliums einer Vollblutkonserve.

Bei den Erythrocytenkonzentraten der Herstellungstage 7 und 21 lagen noch geringere Mengen an freiem Kalium pro Konserve vor.

Tab. 6: Absolute Kaliummenge in mmol pro Konserve in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer

Lagerungs- tag	Vb		Ek 0		Ek 7		Ek 21	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	2,10	0,32	0,97	0,31				
4	3,17	0,62	1,76	0,69				
7	4,80	0,77	2,30	0,51	1,18	0,26		
14	7,09	1,03	3,88	0,98	2,61	0,49		
21	7,95	0,98	4,91	1,18	3,25	0,89	2,51	0,69
28	10,41	1,27	5,92	1,09	4,64	0,89	3,68	0,92
35	10,99	1,57	7,30	1,75	5,37	0,77	4,47	1,00

Bezeichnungen:

- Vb = Vollblutkonserven
- Ek 0 = am Lagerungstag 0 hergestellte Erythrocytenkonzentrate
- Ek 7 = am Lagerungstag 7 hergestellte Erythrocytenkonzentrate
- Ek 21 = am Lagerungstag 21 hergestellte Erythrocytenkonzentrate

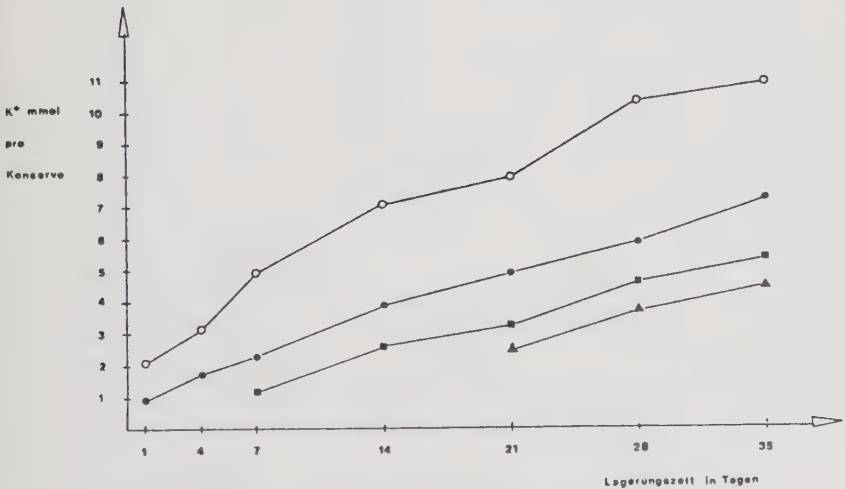


Abb. 7: Kaliummenge pro Konserve in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer

3.1.6. Verhalten der Konzentration des freien Hämoglobins im Überstand bei 5wöchiger Lagerung

In den Vollblutkonserven war mit 130 mg/100 ml ($s = 50$ mg/100 ml) am Tag 1 und 210 mg/100 ml ($s = 50$ mg/100 ml) am Tag 35 nur ein mäßiger Anstieg des freien Hämoglobins zu verzeichnen (Tab. 7 und Abb. 8).

Demgegenüber wurden in den über den gleichen Zeitraum hingelagerten Erythrocytenkonzentraten größere Konzentrationen gemessen, die zum Teil das Doppelte der Konzentrationen in den Vollblutkonserven erreichten. Außerdem stieg die Konzentration schneller an, von 140 mg/100 ml ($s = 80$ mg/100 ml) am Tag 1 über 340 mg/100 ml ($s = 110$ mg/100 ml) am Tag 21 auf 410 mg/100 ml ($s = 140$ mg/100 ml) am Tag 35.

Ähnliche Hämoglobinwerte fanden sich auch bei den später gewonnenen Erythrocytenkonzentraten.

Tab. 7: Freies Hämoglobin im Überstand in mg/100 ml in
Abhängigkeit von der Lagerungsdauer

Lage- rungs- tag	Vb		Ek 0		Ek 7		Ek 21	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	130	50	140	80				
4	130	60	210	70				
7	140	100	250	90	220	130		
14	150	60	340	110	360	240		
21	180	100	340	110	460	230	320	140
28	180	70	350	130	460	200	320	140
35	210	50	410	140	480	130	330	100

Bezeichnungen:

- Vb = Vollblutkonserven
- Ek 0 = am Lagerungstag 0 hergestellte Erythrocyten-konzentrate
- Ek 7 = am Lagerungstag 7 hergestellte Erythrocyten-konzentrate
- Ek 21 = am Lagerungstag 21 hergestellte Erythrocyten-konzentrate

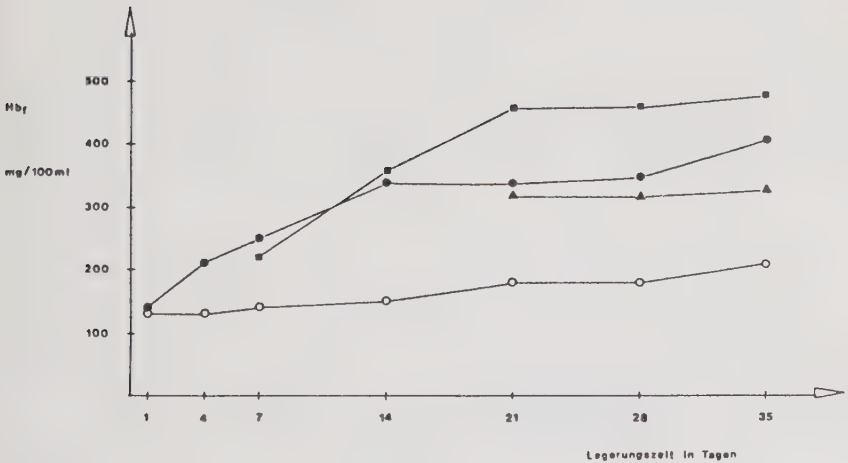


Abb 8: Konzentration des freien Hämoglobins in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer

3.1.7. Verhalten der Gesamtleukocytenzahl pro Konserve bei 5wöchiger Lagerung

Die Leukocytenzahl pro Konserve reduzierte sich sowohl in Vollblutkonserven als auch in Erythrocytenkonzentraten beständig mit einem deutlichen Abfall in den ersten 3 Wochen (Tab. 8 und Abb. 9).

Bis zum Tag 21 fiel die Leukocytenzahl in den Vollblutkonserven von $3,51 \cdot 10^9$ ($s = 0,40 \cdot 10^9/\text{Konserve}$) auf $1,96 \cdot 10^9$ Leukocyten pro Konserve ($s = 0,15 \cdot 10^9/\text{Konserve}$). Dies entspricht 55,84 % des Ausgangswertes.

In den Erythrocytenkonzentraten reduzierte sie sich bis zu diesem Zeitpunkt von $1,01 \cdot 10^9$ ($s = 0,04 \cdot 10^9/\text{Konserve}$) auf $0,69 \cdot 10^9$ Leukocyten pro Konserve (68,32 %, $s = 0,10 \cdot 10^9/\text{Konserve}$).

Nach einem mäßigen Abfall in den letzten 2 Wochen waren am Tag 35 noch $1,75 \cdot 10^9$ Leukocyten pro Konserve (49,86 %, $s = 0,09 \cdot 10^9/\text{Konserve}$) in den Vollblutkonserven bzw. $0,53 \cdot 10^9$ Leukocyten pro Konserve (52,48 %, $s = 0,05 \cdot 10^9/\text{Konserve}$) in den Erythrocytenkonzentraten vorhanden.

Bei den am Tag 21 erstellten Erythrocytenkonzentraten wurde keine Abnahme der Leukocytenzahlen registriert.

Tab. 8: Leukocytenzahl pro Konserve in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer

Lagerungs- tag	Vb		Ek 0		Ek 21	
	$\bar{x}$ ($\cdot 10^9$)	s ($\cdot 10^9$)	$\bar{x}$ ($\cdot 10^9$)	s ($\cdot 10^9$)	$\bar{x}$ ($\cdot 10^9$)	s ($\cdot 10^9$)
1	3,51	0,40	1,01	0,04		
7	2,99	0,41	0,74	0,06		
14	2,64	0,31	0,69	0,03		
21	1,96	0,15	0,69	0,10	0,72	0,21
28	1,88	0,20	0,57	0,10	0,68	0,22
35	1,75	0,09	0,53	0,05	0,71	0,18

Bezeichnungen:

- Vb = Vollblutkonserven
- Ek 0 = am Lagerungstag 0 hergestellte Erythrocytenkonzentrate
- Ek 21 = am Lagerungstag 21 hergestellte Erythrocytenkonzentrate

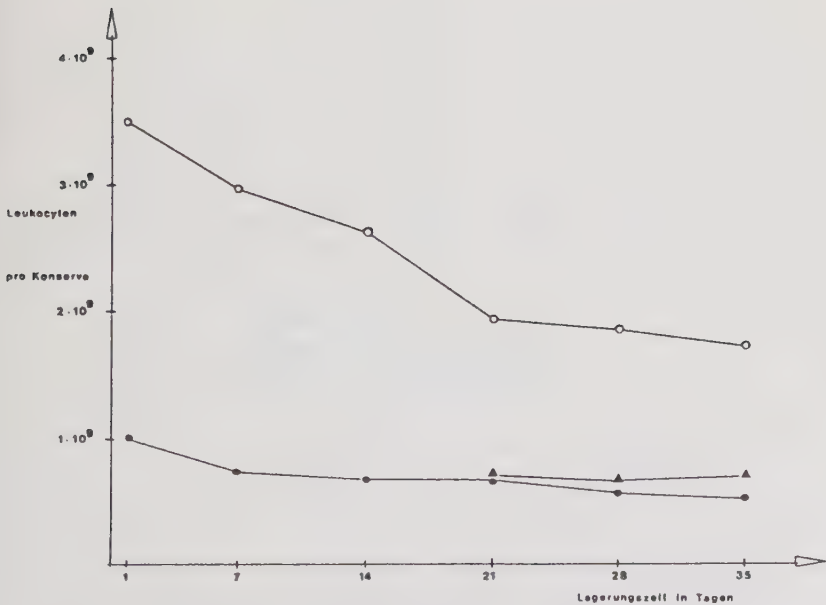


Abb. 9: Leukocytenzahl pro Konserve in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer

3.1.8. Veränderung der Lagerungsparameter durch 3maliges Waschen der Konserven mit 0,9 %iger Natriumchloridlösung am Ende der Lagerung

Das sich während der Lagerung anhäufende Plasmakalium konnte durch 3maliges Waschen nahezu vollständig entfernt werden (Tab. 9). Die abschließende Kaliumkonzentration lag bei 0,02 mmol/l ($s = 0,02$ mmol/l) in Vollblutkonserven und 0,03 mmol/l ($s = 0,03$ mmol/l) in Erythrocytenkonzentraten.

Ebenso wurde die Konzentration des freien Hämoglobins mit jeweils 40 mg/100 ml ($s = 40$ mg/100 ml bzw. 30 mg/100 ml) in Vollblutkonserven und Erythrocytenkonzentraten drastisch reduziert.

Tab. 9: Veränderung der Lagerungsparameter durch 3maliges Waschen der Konserven mit 0,9 %iger Natriumchloridlösung am Ende der Lagerung

		Vb		Ek	
		v.W.	n.W.	v.W.	n.W.
Hk	$\bar{x}$	39,8	79,3	70,1	83,5
(%)	(s)	(3,4)	(2,9)	(4,9)	(3,1)
2,3-DPG	$\bar{x}$	0,14	0,06	0,07	0,04
(mmol/l Ery)	(s)	(0,11)	(0,04)	(0,04)	(0,03)
pH	$\bar{x}$	6,63	6,47	6,64	6,42
	(s)	(0,06)	(0,05)	(0,06)	(0,04)
K	$\bar{x}$	29,73	0,02	40,39	0,03
(mmol/l)	(s)	(4,32)	(0,02)	(4,63)	(0,03)
Hb _f	$\bar{x}$	210	40	480	40
(mg/100 ml)	(s)	(50)	(40)	(130)	(30)
Leukocyten	$\bar{x}$	$1,75 \cdot 10^9$	$0,21 \cdot 10^9$	$0,53 \cdot 10^9$	$0,17 \cdot 10^9$
(/Konserve)	(s)	$(0,09 \cdot 10^9)$	$(0,09 \cdot 10^9)$	$(0,05 \cdot 10^9)$	$(0,04 \cdot 10^9)$

Bezeichnungen:

- Vb = Vollblutkonserven
- Ek = Erythrocytenkonzentrate
- v.W. = Wert am Tag 35 vor dem Waschen
- n.W. = Wert am Tag 35 nach dem Waschen

3.1.9. Veränderung der Lagerungsparameter nach Tiefkühlkonservierung bei -196°C

Gegenüber den konventionell über 5 Wochen gelagerten Konserven ergaben die Messungen in den tiefkühlkonservierten Konserven vergleichsweise geringfügige, laborchemische Veränderungen während der Lagerungszeit (Tab. 10). Hervorzuheben sind der relativ niedrige Abfall des pH-Wertes von 7,32 ($s = 0,03$) beim Ausgangserythrocytenkonzentrat auf 7,05 ($s = 0,03$) in den transfusionsfertigen Konserven.

Die Kaliumkonzentration betrug hier 1,09 mmol/l ($s = 0,38$ mmol/l).

Die 2,3-Diphosphoglyceratkonzentration lag bei 3,13 mmol/l Ery ($s = 0,63$ mmol/l Ery), was einer Reduktion der Ausgangskonzentration von 30,60 % entspricht.

Die Konzentration des freien Hämoglobins im Überstand betrug 250 mg/100 ml ($s = 86$ mg/100 ml). Eine vermehrte Hämolyse im Überstand wurde nicht beobachtet.

Tab. 10: Veränderung der Lagerungsparameter nach Tiefkühlkonservierung bei -196°C

		St-Ek	T-Ek
Hk	$\bar{x}$	72,1	87,3
(%)	(s)	(5,0)	(4,3)
2,3-DPG	$\bar{x}$	4,51	3,13
(mmol/l Ery)	(s)	(0,90)	(0,63)
pH	$\bar{x}$	7,32	7,05
	(s)	(0,03)	(0,03)
K	$\bar{x}$	10,35	1,09
(mmol/l)	(s)	(3,05)	(0,38)
Hb _f	$\bar{x}$	200	250
(mg/100 ml)	(s)	(122)	(86)
Leukocyten	$\bar{x}$	$1,41 \cdot 10^9$	$0,04 \cdot 10^9$
(/Konserve)	(s)	$(0,52 \cdot 10^9)$	$(0,04 \cdot 10^9)$

Bezeichnungen:

St-Ek = Standarderythrocytenkonzentrat

T-Ek = tiefkühlkonserviertes Erythrocytenkonzentrat

3.2. Ergebnisse von Teil II - Verfahrensbedingte Reduktion von Leukocyten, Thrombocyten und Plasmaproteinen in Erythro- cytenkonzentraten

3.2.1. Erythrocytenverlust bei der Herstellung der Erythrocytenkonzentrate

Bei der Herstellung der Standarderythrocytenkonzentrate wurde der Erythrocytenanteil der Vollblutkonserven von 220,74 ml (s = 15,61 ml) um 18,07 ml auf 202,67 ml (s = 12,34 ml) reduziert (Tab. 11).

Nach 3maligem Waschen mit 0,9 %iger Natriumchloridlösung wurde der Erythrocytenanteil dieser Erythrocytenkonzentrate um weitere 29,39 ml auf 173,28 ml (s = 22,46 ml) vermindert. Der gesamte Erythrocytenverlust belief sich auf 46,47 ml (21,50 %).

Bei der Herstellung mit dem Trenngerät nach SCHNEIDER gingen 46,81 ml (21,44 %) an Erythrocyten verloren.

Bei der Filtrationstechnik betrug der Erythrocytenanteil 204,62 ml (s = 12,27 ml) vor und 192,97 ml (s = 15,11 ml) nach dem Filtern. Der Filtrationsvorgang selbst führte demnach zu einem Erythrocytenverlust von 11,65 ml (5,69 %). Von dem Erythrocytenanteil der Vollblutkonserven ausgehend erhöhte sich der Verlust auf 30,32 ml (13,58 %).

Für die tiefkühlkonservierten Erythrocytenkonzentrate ergab sich bei der Präparation ein Erythrocytenverlust von 59,85 ml (28,08 %) vom Erythrocytenanteil des Standarderythrocytenkonzentrats aus und von 76,95 ml (33,42 %) von den Vollblutkonserven aus.

Tab. 11: Erythrocytenverlust bei der Herstellung der Erythrocytenkonzentrate in Teil II

		3xW-Ek	S-Ek	F-Ek	T-Ek
Ery- volu- men (ml)	Vb	$\bar{v}$ 220,74 (s) (15,61)	218,33 (15,68)	223,29 (17,01)	230,25 (18,35)
	St-Ek	$\bar{v}$ 202,67 (s) (12,34)	- -	204,62 (12,27)	213,15 (23,44)
	Endpro- dukt	$\bar{v}$ 173,28 (s) (22,46)	171,52 (35,67)	192,97 (15,11)	153,30 (21,87)
	Ery- ver- lust (ml)	$\bar{v}$ 47,46 q 21,50	46,81 21,44	30,32 13,58	76,95 33,42

Bezeichnungen:

- 3xW-Ek = 3mal gewaschenes Erythrocytenkonzentrat
- S-Ek = Erythrocytenkonzentrat nach Schneider
- F-Ek = gefiltertes Erythrocytenkonzentrat
- T-Ek = tiefkühlkonserviertes Erythrocytenkonzentrat

3.2.2. Leukocyten-, Thrombocyten- und Plasmaproteinreduktion durch Waschverfahren mit 0,9 %iger Natriumchloridlösung

Im Standarderythrocytenkonzentrat waren noch $0,83 \cdot 10^9$ Leukocyten pro Konserve ($s = 0,38 \cdot 10^9/\text{Konserve}$) vorhanden, das sind 21,27 % der Leukocytenzahl im Vollblut (Tab. 12).

Im 1mal gewaschenen Erythrocytenkonzentrat reduzierte sich die Zahl auf $0,49 \cdot 10^9$ (13,06 %, $s = 0,18 \cdot 10^9/\text{Konserve}$), im 3mal gewaschenen Erythrocytenkonzentrat auf $0,27 \cdot 10^9$ Leukocyten pro Konserve (7,21 %, $s = 0,17 \cdot 10^9/\text{Konserve}$).

Die Thrombocytenzahl lag bei $25,15 \cdot 10^9$ Thrombocyten pro Konserve (17,13 %, $s = 18,86 \cdot 10^9/\text{Konserve}$) im Standarderythrocytenkonzentrat, $16,78 \cdot 10^9$ (12,34 %, $s = 6,42 \cdot 10^9/\text{Konserve}$) im 1mal gewaschenen und $9,62 \cdot 10^9$ Thrombocyten pro Konserve (6,61 %, $s = 3,65 \cdot 10^9/\text{Konserve}$) im 3mal gewaschenen Erythrocytenkonzentrat.

Die Plasmaproteinmenge betrug 2,02 g pro Konserve (8,30 %, $s = 0,19 \text{ g/Konserve}$) im Standarderythrocytenkonzentrat, 79,21 mg pro Konserve (0,33 %, $s = 26,86 \text{ mg/Konserve}$) im 1mal gewaschenen und 0,34 mg pro Konserve (0,0014 %, $s = 0,21 \text{ mg/Konserve}$) im 3mal gewaschenen Präparat.

Tab. 12: Leukocyten-, Thrombocyten- und Plasmaproteinreduktion durch Waschverfahren mit 0,9 %iger Natriumchloridlösung

		Leukocyten/ Konserve	Thrombocyten/ Konserve	Protein mg/ Konserve
Vb	$\bar{x}$	$3,93 \cdot 10^9$	$151,82 \cdot 10^9$	$24,37 \cdot 10^3$
	(s)	$(0,87 \cdot 10^9)$	$(37,71 \cdot 10^9)$	$(1,91 \cdot 10^3)$
	%	100,00	100,00	100,00
	(s)	(11,00)	(24,83)	(7,55)
St-Ek	$\bar{x}$	$0,83 \cdot 10^9$	$25,15 \cdot 10^9$	$2,02 \cdot 10^3$
	(s)	$(0,38 \cdot 10^9)$	$(18,86 \cdot 10^9)$	$(0,19 \cdot 10^3)$
	%	21,27	17,13	8,30
	(s)	(8,10)	(10,30)	(0,40)
1xW-Ek	$\bar{x}$	$0,49 \cdot 10^9$	$16,78 \cdot 10^9$	79,21
	(s)	$(0,18 \cdot 10^9)$	$(6,42 \cdot 10^9)$	(28,86)
	%	13,06	12,34	0,33
	(s)	(5,55)	(8,50)	(0,11)
3xW-Ek	$\bar{x}$	$0,27 \cdot 10^9$	$9,62 \cdot 10^9$	0,34
	(s)	$(0,17 \cdot 10^9)$	$(3,65 \cdot 10^9)$	(0,21)
	%	7,27	6,61	0,0014
	(s)	(5,01)	(2,44)	(0,0009)

Bezeichnungen:

Vb = Vollblut

St-Ek = Standarderythrocytenkonzentrat

1xW-Ek = 1mal gewaschenes Erythrocytenkonzentrat

3xW-Ek = 3mal gewaschenes Erythrocytenkonzentrat

3.2.3. Leukocyten-, Thrombocyten- und Plasmaprotein- reduktion durch Separation mit dem Trenngerät nach SCHNEIDER

In dem nach SCHNEIDER hergestellten Erythrocytenkonzentrat lagen noch $0,08 \cdot 10^9$ Leukocyten pro Konserve ($s = 0,07 \cdot 10^9/\text{Konserve}$) vor, was 2,69 % der Leukocytenzahl vor der Präparation entspricht (Tab. 13).

Anschließendes Waschen mit 0,9 %iger Natriumchloridlösung führte zu weiterer Reduktion auf $0,07 \cdot 10^9$ Leukocyten pro Konserve (2,49 %, $s = 0,04 \cdot 10^9/\text{Konserve}$) im 1mal und $0,04 \cdot 10^9$ Leukocyten pro Konserve (1,24 %, $s = 0,03 \cdot 10^9/\text{Konserve}$) im 3mal gewaschenen Präparat.

Die Thrombocytenzahl betrug im Erythrocytenkonzentrat nach Schneider $6,68 \cdot 10^9$ Thrombocyten pro Konserve (5,31 %, $s = 3,03 \cdot 10^9/\text{Konserve}$). Sie verringerte sich weiter nach 1maligem Waschen auf $4,51 \cdot 10^9$ Thrombocyten pro Konserve (3,57 %, $s = 2,85 \cdot 10^9/\text{Konserve}$) sowie nach 3maligem Waschen auf $2,86 \cdot 10^9$ Thrombocyten pro Konserve (2,29 %, $s = 0,90 \cdot 10^9/\text{Konserve}$).

1,05 g Plasmaprotein (4,57 %, $s = 0,56 \text{ g/Konserve}$) waren im Erythrocytenkonzentrat vorhanden, dagegen 40,16 mg pro Konserve (0,18 %, $s = 37,60 \text{ mg/Konserve}$) nach zusätzlichem 1maligem Waschen und 0,14 mg pro Konserve (0,0006 %, $s = 0,06 \text{ mg/Konserve}$) bei 3maligem Waschen.

Tab. 13: Leukocyten-, Thrombocyten- und Plasmaprotein-
reduktion durch Separation mit dem Trenngerät
nach Schneider

		Leukocyten/ Konserve	Thrombocyten/ Konserve	Protein mg/ Konserve
Vb	$\bar{x}$	$3,02 \cdot 10^9$	$131,40 \cdot 10^9$	$23,22 \cdot 10^3$
	(s)	$(0,98 \cdot 10^9)$	$(23,88 \cdot 10^9)$	$(1,72 \cdot 10^3)$
	%	100,00	100,00	100,00
	(s)	(32,34)	(18,16)	(7,62)
S-Ek	$\bar{x}$	$0,08 \cdot 10^9$	$6,68 \cdot 10^9$	$1,05 \cdot 10^3$
	(s)	$(0,07 \cdot 10^9)$	$(3,03 \cdot 10^9)$	$(0,56 \cdot 10^3)$
	%	2,69	5,31	4,57
	(s)	(2,26)	(2,71)	(2,34)
1xW-Ek	$\bar{x}$	$0,07 \cdot 10^9$	$4,51 \cdot 10^9$	40,16
	(s)	$(0,04 \cdot 10^9)$	$(2,85 \cdot 10^9)$	(37,60)
	%	2,49	3,57	0,18
	(s)	(1,39)	(2,37)	(0,17)
3xW-Ek	$\bar{x}$	$0,04 \cdot 10^9$	$2,86 \cdot 10^9$	0,14
	(s)	$(0,03 \cdot 10^9)$	$(0,90 \cdot 10^9)$	(0,06)
	%	1,24	2,29	0,0006
	(s)	(0,80)	(0,96)	(0,0003)

Bezeichnungen:

- Vb = Vollblut
S-Ek = Erythrocytenkonzentrat nach Schneider
1xW-Ek = 1mal gewaschenes Erythrocytenkonzentrat
3xW-Ek = 3mal gewaschenes Erythrocytenkonzentrat

3.2.4. Leukocyten-, Thrombocyten- und Plasmaproteinreduktion durch automatische Filtration mit Cellulose-Acetatfiltern

Das gefilterte Erythrocytenkonzentrat wies noch $0,03 \cdot 10^9$ Leukocyten pro Konserve (0,88 %, $s = 0,007 \cdot 10^9/\text{Konserve}$) auf (Tab. 14).

Nach 3maligem Waschen steigerte sich die Reduktion bis auf den Restgehalt von $0,01 \cdot 10^9$ Leukocyten pro Konserve (0,46 %, $s = 0,01 \cdot 10^9/\text{Konserve}$).

Ebenso konnte die Thrombocytenzahl von $5,90 \cdot 10^9$ (3,85 %, $s = 1,72 \cdot 10^9/\text{Konserve}$) im gefilterten Erythrocytenkonzentrat durch 3maliges Waschen auf $3,92 \cdot 10^9$ Thrombocyten pro Konserve (2,55 %, $s = 1,84 \cdot 10^9/\text{Konserve}$) vermindert werden.

Die Plasmaproteinmenge betrug im gefilterten Erythrocytenkonzentrat 76,36 mg pro Konserve (0,33 %, $s = 43,44 \text{ mg/Konserve}$) und war nach weiterem 2maligem Waschen mit 0,58 mg pro Konserve (0,0029 %, $s = 0,52 \text{ mg/Konserve}$) wesentlich reduziert.

Tab. 14: Leukocyten-, Thrombocyten- und Plasmaprotein-
reduktion durch automatische Filtration mit
Cellulose-Acetatfiltern

		Leukocyten/ Konserve	Thrombocyten/ Konserve	Protein mg/ Konserve
Vb	$\bar{x}$	$3,30 \cdot 10^9$	$153,93 \cdot 10^9$	$22,97 \cdot 10^3$
	(s)	$(0,74 \cdot 10^9)$	$(17,22 \cdot 10^9)$	$(1,59 \cdot 10^3)$
	$\bar{t}$	100,00	100,00	100,00
	(s)	(22,45)	(9,43)	(6,93)
St-Ek	$\bar{x}$	$0,93 \cdot 10^9$	$37,30 \cdot 10^9$	$2,02 \cdot 10^3$
	(s)	$(0,27 \cdot 10^9)$	$(24,81 \cdot 10^9)$	$(0,71 \cdot 10^3)$
	$\bar{t}$	29,57	24,17	8,76
	(s)	(13,42)	(15,96)	(2,86)
F-Ek	$\bar{x}$	$0,03 \cdot 10^9$	$5,90 \cdot 10^9$	76,36
	(s)	$(0,007 \cdot 10^9)$	$(1,72 \cdot 10^9)$	(43,44)
	$\bar{t}$	0,88	3,85	0,33
	(s)	(0,39)	(1,11)	(0,18)
3xW-Ek	$\bar{x}$	$0,01 \cdot 10^9$	$3,92 \cdot 10^9$	0,58
	(s)	$(0,01 \cdot 10^9)$	$(1,84 \cdot 10^9)$	(0,52)
	$\bar{t}$	0,46	2,55	0,0029
	(s)	(0,38)	(1,19)	(0,0019)

Bezeichnungen:

- Vb = Vollblut
- St-Ek = Standarderythrocytenkonzentrat
- F-Ek = gefiltertes Erythrocytenkonzentrat
- 3xW-Ek = 3mal gewaschenes Erythrocytenkonzentrat

3.2.5. Leukocyten-, Thrombocyten- und Plasmaprotein- reduktion durch Tiefkühlkonservierung

Das aufgetaute und transfusionsfertige Erythrocytenkonzentrat enthielt noch $0,02 \cdot 10^9$ Leukocyten pro Konserve (0,55 %, $s = 0,01 \cdot 10^9$ /Konserve) (Tab. 15).

Ähnlich niedrig war die Thrombocytenzahl mit $1,58 \cdot 10^9$ Thrombocyten pro Konserve (1,11 %, $s = 0,18 \cdot 10^9$ /Konserve).

Es waren keine meßbaren Mengen an Plasmaproteinen im Überstand mehr vorhanden. Die Konzentration lag unter der Nachweisgrenze der Lowry-Bestimmungsmethode.

Tab. 15: Leukocyten-, Thrombocyten- und Plasmaprotein-
reduktion durch Tiefkühlkonservierung

		Leukocyten/ Konserve	Thrombocyten/ Konserve	Protein mg/ Konserve
Vb	$\bar{x}$	$3,61 \cdot 10^9$	$142,54 \cdot 10^9$	$23,43 \cdot 10^3$
	(s)	$(1,04 \cdot 10^9)$	$(18,84 \cdot 10^9)$	$(1,62 \cdot 10^3)$
	%	100,00	100,00	100,00
	(s)	(28,73)	(16,08)	(6,22)
St-Ek	$\bar{x}$	$1,44 \cdot 10^9$	$27,50 \cdot 10^9$	$1,89 \cdot 10^3$
	(s)	$(0,44 \cdot 10^9)$	$(14,95 \cdot 10^9)$	$(0,22 \cdot 10^3)$
	%	34,35	19,29	8,07
	(s)	(9,38)	(9,45)	(1,32)
T-Ek	$\bar{x}$	$0,02 \cdot 10^9$	$1,58 \cdot 10^9$	0,00
	(s)	$(0,01 \cdot 10^9)$	$(0,18 \cdot 10^9)$	(0,00)
	%	0,55	1,11	0,00
	(s)	(0,49)	(0,85)	(0,00)

Bezeichnungen:

- Vb = Vollblut
 St-Ek = Standarderythrocytenkonzentrat
 T-Ek = tiefkühlkonserviertes Erythrocytenkonzentrat

Tab. 16: Vergleich der verschiedenen Methoden zur Herstellung von leukocyten-, thrombocyten- und plasma-proteinarmen Erythrocytenkonzentraten

		Leukocyten/ Konserve	Thrombocyten/ Konserve	Protein mg/ Konserve
3xW-Ek	$\bar{x}$	$0,27 \cdot 10^9$	$9,62 \cdot 10^9$	0,34
	(s)	$(0,17 \cdot 10^9)$	$(3,65 \cdot 10^9)$	(0,21)
	$\bar{y}$	7,27	6,61	0,0014
	(s)	(5,01)	(2,44)	(0,0009)
S-Ek	$\bar{x}$	$0,08 \cdot 10^9$	$6,68 \cdot 10^9$	$1,05 \cdot 10^3$
	(s)	$(0,07 \cdot 10^9)$	$(3,03 \cdot 10^9)$	$(0,56 \cdot 10^3)$
	$\bar{y}$	2,69	5,31	4,57
	(s)	(2,26)	(2,71)	(2,34)
F-Ek	$\bar{x}$	$0,03 \cdot 10^9$	$5,90 \cdot 10^9$	76,36
	(s)	$(0,007 \cdot 10^9)$	$(1,72 \cdot 10^9)$	(43,44)
	$\bar{y}$	0,88	3,85	0,33
	(s)	(0,39)	(1,11)	(0,18)
T-Ek	$\bar{x}$	$0,02 \cdot 10^9$	$1,58 \cdot 10^9$	0,00
	(s)	$(0,01 \cdot 10^9)$	$(0,18 \cdot 10^9)$	(0,00)
	$\bar{y}$	0,55	1,11	0,00
	(s)	(0,49)	(0,85)	(0,00)

Bezeichnungen:

- 3xW-Ek = 3mal gewaschenes Erythrocytenkonzentrat
- S-Ek = Erythrocytenkonzentrat nach Schneider
- F-Ek = gefiltertes Erythrocytenkonzentrat
- T-Ek = tiefkühlkonserviertes Erythrocytenkonzentrat

3.2.6. Ergebnisse der Differentialblutbilder der transfusionsfertigen Erythrocytenkonzentrate

Nur auf den Ausstrichen der Vollblut- und Standarderythrocytenkonzentratreihe waren genügend Zellen für eine vollständige Differenzierung vorhanden (Tab. 17).

In den anderen Ausstrichen war die Zahl der Leukocyten für eine Differenzierung bei Auswertung bis zu 6 Objektträgern nicht ausreichend.

Es kann jedoch gesagt werden, daß sich das Verhältnis Granulocyten zu Lymphocyten in der Reihenfolge Vollblutkonserven (ca. 1:1) - Standarderythrocytenkonzentrate (ca. 1:2) - 3mal gewaschene Erythrocytenkonzentrate (1:4) - Erythrocytenkonzentrate nach SCHNEIDER (1:4) zugunsten der Lymphocyten verschob. Im gefilterten und tiefkühlkonservierten Erythrocytenkonzentrat waren nur noch wenige Lymphocyten pro Objektträger vorhanden. Kein einziger intakter Granulocyt wurde hier gefunden.

Im 3mal gewaschenen Erythrocytenkonzentrat sowie im Erythrocytenkonzentrat nach Schneider zeigten sich viele geplatzte Zellen und Zelltrümmer.

Tab. 17: Differentialblutbilder der transfusionsfertigen
Erythrocytenkonzentrate

	Vb	St-Ek	3xW-Ek	S-Ek	F-Ek	T-Ek
Zellzahl auf 6 Ausstrichen	600	600	185	40	24	10
Lymphocyten	294	390	148	32	24	10
¶	49	65	80	80	100	100
Granulo- cyten	270	186	37	8	-	-
¶	45	31	20	20	-	-
Übrige Zellen	36	24	-	-	-	-
¶	6	4				

Bezeichnungen:

- Vb = Vollblut
- St-Ek = Standarderythrocytenkonzentrat
- 3xW-Ek = 3mal gewaschenes Erythrocytenkonzentrat
- S-Ek = Erythrocytenkonzentrat nach Schneider
- F-Ek = gefiltertes Erythrocytenkonzentrat
- T-Ek = tiefkühlkonserviertes Erythrocytenkonzentrat

4. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

4.1. Diskussion der Ergebnisse von Teil I - Verhalten der Lagerungsparameter bei 5wöchiger Lagerung sowie nach Tiefkühlkonservierung

4.1.1. Hämatokritstabilität und Leukocytenabfall bei 5wöchiger Lagerung

Wie auch in anderen Verlaufsbeobachtungen dokumentiert (2, 47, 52, 56, 81), blieb der Hämatokrit während der 5wöchigen Lagerung in Vollblutkonserven und Erythrocytenkonzentraten stabil. Die etwas niedrigeren Hämatokritwerte bei den Erythrocytenkonzentraten, die erst nach 3 Wochen Lagerung hergestellt worden sind, sind nicht durch eine verstärkte Hämolyse, sondern durch das wenig standardisierte Verfahren des Abpressens von Plasma und Buffycoat bei der Präparation zu erklären. Zudem blieb der Hämatokrit bei weiterer Lagerung konstant.

Die Gesamtleukocytenzahl pro Konserve lag im buffycoat-freien Erythrocytenkonzentrat nach 5 Wochen immerhin noch bei $0,53 \cdot 10^9$ Leukocyten. Damit enthält ein länger gelagertes, buffycoat-armes Erythrocytenkonzentrat zwar weitgehend funktionslose, aber nach wie vor immunogene Leukocyten.

Auch bei Herstellung der Erythrocytenkonzentrate nach 3 Wochen Lagerung konnte keine qualitativ bessere Leukocytenreduktion erzielt werden. Zur Prophylaxe von febrilen Transfusionsreaktionen ist deshalb auch bei älterem Konservenblut eine spezielle Präparation erforderlich.

4.1.2. Abfall der 2,3-Diphosphoglyceratkonzentration bei 5wöchiger Lagerung und dessen klinische Bedeutung

Unsere Messungen zeigten, daß in einer 1 Woche alten CPDA-1 Konserve noch ca. 50 %, in einer 2 Wochen alten Konserve noch 10 % der Ausgangskonzentration an 2,3-Diphosphoglycerat (2,3-DPG) vorhanden sind. Demnach liegen in 2 Wochen oder länger gelagerten Konserven nur mehr physiologisch unbedeutende Konzentrationen an 2,3-DPG vor. Ein ähnlich rapider Abfall wird auch in anderen Untersuchungen angegeben (6, 48, 102).

Der Abfall der 2,3-DPG-Konzentration war bei Erythrocytenkonzentraten und Vollblutkonserven nahezu identisch. Der Zeitpunkt der Erythrocytenkonzentrierherstellung beeinflusste nicht das Absinken der Konzentration. Die Lagerung als Vollblutkonserve und Umwandlung zum Erythrocytenkonzentrat zu einem späteren Zeitpunkt konserviert die 2,3-DPG-Konzentration demnach nicht.

Deutlich zeigte sich der verzögerte Abfall der 2,3-DPG-Konzentration in CPDA-1 Konserven gegenüber Konserven mit ACD-Konservierungslösung. Im Vergleich zu Untersuchungen mit ACD-Lösung (11, 42, 47, 51) war die 2,3-DPG-Konzentration in der vorliegenden Untersuchung nach 1 Woche Lagerung mehr als doppelt so hoch. Dieser Effekt ist allerdings nur in den ersten 2 Wochen zu beobachten, später gleichen sich die Werte in beiden Konservierungslösungen zunehmend an.

CPDA-1 Konservenblut bietet damit beim klinischen Einsatz den Vorteil, daß der Effekt des Konzentrationsabfalls, nämlich Linksverschiebung der Sauerstoffdissoziationskurve und damit erschwerte O_2 -Abgabe im Gewebe (59) erst verzögert auftritt.

Diese erschwerte O_2 -Abgabe zeigt bei Patienten ohne kardiopulmonale Vorerkrankungen keinerlei Auswirkungen (1,

40, 59), zumal sich die 2,3-DPG-Konzentration im Empfängerorganismus relativ rasch nach der Transfusion zu regenerieren scheint (10).

Liegen jedoch kardiopulmonale Störungen, wie Herzinsuffizienz oder Ventilations- bzw. Perfusionsstörungen, vor, so kann eine mangelhafte Oxygenierung des Organismus eintreten, da die verminderte Sauerstoffabgabe der Erythrocyten nicht kompensiert werden kann (5, 6, 43, 48, 51, 59, 109).

Bei diesen Patienten und generell bei allen Patienten, die auf eine maximale Sauerstoffaufnahme innerhalb der ersten 24 bis 48 Stunden posttransfusionell angewiesen sind, wird empfohlen, die 2,3-DPG-Konzentration der transfundierten Konserve zu berücksichtigen (15, 40, 59).

Nach der vorliegenden Untersuchung können hierfür nur Vollblutkonserven oder Erythrocytenkonzentrate mit einem Alter bis zu 4 Tagen empfohlen werden. Bei der 1 Woche alten Konserve, die einen 2,3-DPG-Verlust von ca. 50 % zeigt, ist nach VALERI und HIRSCH (103) bereits mit einer Verschiebung der O_2 -Dissoziationskurve zu rechnen.

4.1.3. pH-Abfall und Anstieg von extrazellulärem Kalium und freiem Hämoglobin als wesentliche Bestandteile des "metabolischen Risikos" und dessen klinische Bedeutung

Die Laktatproduktion und das im Stabilisator enthaltene Citrat führten nach 5 Wochen Lagerung zu einem durchschnittlichen pH-Wert von 6,63 in unseren Vollblutkonserven und 6,61 in den Erythrocytenkonzentraten. Derselbe Abfall wurde in den später hergestellten Erythrocytenkonzentraten beobachtet.

Im Vergleich zum pH-Abfall in ACD-Konserven (17, 27, 51) waren die festgestellten pH-Werte an den Stichtagen um 0,10 bis 0,15 pH-Einheiten alkalischer.

Aufgrund der gestörten Funktion der Erythrocytenmembran und der zunehmenden Hämolyse stieg die extrazelluläre Kaliumkonzentration bei den Vollblutkonserven ca. um das 6fache, bei den Erythrocytenkonzentraten um das 8,5fache des Ausgangswertes. Dieser Anstieg ist vergleichbar mit anderen Verlaufsbeobachtungen (2, 17, 27, 47, 51, 52, 64).

In Erythrocytenkonzentraten wurden erheblich höhere Konzentrationen an extrazellulärem Kalium erreicht, dennoch wird, gemessen anhand der Kaliummenge pro Konserve, mit einer Vollblutkonserve an jedem Stichtag das 1,5- bis 2fache der Kaliummenge eines Erythrocytenkonzentrats transfundiert.

Die Kaliumkonzentration und Kaliummenge eines Erythrocytenkonzentrats waren beide klar abhängig vom Herstellungszeitpunkt. Je später die Erythrocytenkonzentrate nach vorausgegangener Lagerung als Vollblut entstanden waren, um so geringer waren Konzentration und Menge an Kalium in der untersuchten Konserve. Die Geschwindigkeit des Kaliumanstiegs war allerdings in allen Versuchsreihen gleich.

Dies bedeutet, daß geringe Konzentrationen und Mengen an Kalium im Erythrocytenkonzentrat vorliegen, wenn Plasma mitsamt Buffycoat erst unmittelbar vor der Transfusion abgepreßt werden. So gewonnene Erythrocytenkonzentrate könnten in Einzelfällen bei gegebener Indikation für kaliumarmes Konservenblut eingesetzt werden.

Die Beobachtung, daß es in Erythrocytenkonzentraten während der Lagerung zu höheren Hämoglobinkonzentrationen im Überstand kommt als im Vollblut (47, 102), wurde bestätigt.

Die gemessenen Konzentrationen sind zum Teil mit den Werten aus anderen Untersuchungen (17, 47) vergleichbar, zum

Teil liegen sie auch höher (2, 34, 52, 74). Offenbar wurde das Konservenblut unserer Versuchsreihen durch wiederholte Herausnahme aus den Schränken, Probenentnahme usw. doch in gewissem Ausmaß mechanisch beeinträchtigt, so daß höhere Hämoglobinkonzentrationen im Überstand resultierten. Andererseits ist im Routinebetrieb von Blutbanken eine derartige mechanische Manipulation sicher unvermeidlich. Eine Belastung des Patienten durch das freie Hämoglobin in Form einer Hämoglobinurie ist bei den vorliegenden Konzentrationen und selbst bei noch höheren Werten nicht zu erwarten.

Die möglichen unerwünschten oder sogar gefährlichen Auswirkungen dieser Lagerungsveränderungen auf den Patienten, die unter dem Begriff "metabolisches Risiko" zusammengefaßt werden, wurden nach Meinung verschiedener Autoren (5, 48, 109) in der Vergangenheit überbewertet. Vor einer voreiligen, "blinden" Korrektur wird gewarnt (12, 28, 51).

Nach wie vor gilt jedoch, daß im Rahmen von Massivtransfusionen und bei hoher Transfusionsgeschwindigkeit die Acidität und die hohe Kaliummenge von älterem Konservenblut zu einer zusätzlichen Gefährdung des Patienten führen können (12, 27, 51).

Beim gesunden Menschen findet man trotz der starken Belastung des Säure-Basen-Haushalts durch das saure Konservenblut nach Transfusion keine metabolische Acidose. Vielmehr kommt es eher zur metabolischen Alkalose, da Laktat und Citrat sehr schnell in der Leber verstoffwechselt werden und damit vermehrt Bicarbonat frei wird (5).

Der Einsatz von hyperacidem Konservenblut ist jedoch im Schock und bei allen schweren kardiopulmonalen Störungen bedenklich. Hier ist eine gezielte Korrektur des Säure-Basen-Status erforderlich (5, 27, 51, 98).

Ähnliches gilt für die Gefahr der Kaliumüberflutung durch Konservenblut. In der Regel findet man beim Empfänger

normo- oder sogar hypokaliämische Werte, da die transfundierten Erythrocyten dieses Kalium im Rahmen der reaktivierten Stoffwechselfunktion schnell wieder aufnehmen (5, 27, 51, 98, 109).

Liegt jedoch eine fortgeschrittene Niereninsuffizienz oder eine kardiale Störung mit vorbestehender Acidose vor, muß nach großen Transfusionen mit kardiotoxischen Effekten gerechnet werden (17, 27, 90, 105). Ebenso ist der Kaliumgehalt der Konserve bei den Austauschtransfusionen in der Pädiatrie, der Anwendung des extrakorporalen Kreislaufs, sowie beim Blutverlust infolge ausgedehnter Muskelverletzungen in Betracht zu ziehen (64, 105).

In den genannten Fällen sollten nur bestimmte Vollblutkonserven bzw. Erythrocytenkonzentrate zur Transfusion verwendet werden. Bei gegebener Indikation zur Transfusion kommt Frischblut oder, vor allem in weniger kritischen Fällen, das kurz vor der Transfusion erstellte Erythrocytenkonzentrat in Frage. Am sichersten ist die Anwendung des 3mal gewaschenen Erythrocytenkonzentrats. Wie unser Versuch zeigte, gelingt es selbst bei einer 5 Wochen alten Konserve, das Kalium so gut wie vollständig zu entfernen.

Die Acidität des Konservenbluts wird durch Waschen nicht beseitigt. Hier wird man wohl auf frisch gewonnene Erythrocytenkonzentrate zurückgreifen oder in schweren Fällen eine gezielte Pufferung vornehmen.

4.1.4. Qualität der tiefkühlkonservierten Erythrocytenkonzentrate im Vergleich zu konventionell bei 4°C gelagerten Erythrocytenkonzentraten

Die überprüften Lagerungsparameter bestätigten, daß tiefkühlkonservierte Erythrocytenkonzentrate als nahezu gleichwertig gegenüber frisch gelagerten Blutkonserven zu be-

zeichnen sind. Im Prinzip werden funktionell frische Erythrocyten ohne wesentliche "metabolische Last" transfundiert.

Der Abfall der 2,3-DPG-Konzentration um durchschnittlich 30 % gegenüber dem Ausgangswert vermindert kaum die Qualität der Erythrocyten. Bei einem Absinken in dieser Größenordnung sind nach Valeri und Hirsch (103) die Sauerstofftransporteigenschaften der Erythrocyten noch kaum verändert und die O_2 -Dissoziationskurve bleibt unverändert.

Der durchschnittliche pH-Wert von tiefkühlkonservierten Konserven entspricht etwa dem pH-Wert einer 1 Woche alten Konserve, bei dem minimalen Kaliumgehalt entfällt die Gefahr einer Kaliumintoxikation. Tiefkühlkonservierte Erythrocyten können auch in kritischen Situationen bedenkenlos transfundiert werden (s. Punkt 4.1.3.).

Die Konzentration des Hämoglobins im Überstand entspricht quantitativ etwa dem Hämoglobingehalt von konventionell bei 4°C gelagerten Konserven. Voraussetzung dafür ist baldige Transfusion nach dem Auftauen.

Neben weiteren Vorteilen der Tiefkühlkonservierung sei hier noch die nahezu unbegrenzte Lagerungszeit (20, 91, 105) und die Prophylaxe von nicht-hämolytischen febrilen Transfusionsreaktionen erwähnt (s. Punkt 4.2.5.4.).

Nachteilig ist bei dem Verfahren, daß die Konserve innerhalb von 24 Stunden transfundiert werden muß, da das zu fordernde "geschlossene System" durch die Waschvorgänge unterbrochen wird. Vor allem aber wegen der zeitraubenden und kostenintensiven Herstellung müssen tiefkühlkonservierte Erythrocyten speziellen Indikationen vorbehalten bleiben.

- 4.2. Diskussion der Ergebnisse in Teil II -
Verfahrensbedingte Reduktion von Leukocyten,
Thrombocyten und Plasmaproteinen in Erythro-
cytenkonzentraten
- 4.2.1. Die nicht-hämolytische, febrile Transfusions-
reaktion als häufigste Indikation für die Trans-
fusion von leukocyten- und thrombocytenarmen
Erythrocytenkonzentraten

Über 90 % aller Transfusionskomplikationen sind der nicht-hämolytischen, febrilen Transfusionsreaktion zuzuordnen (53). Ihre Häufigkeit wird in der Literatur mit 0,5 % bis zu 3,5 % aller Transfusionen angegeben (60, 61, 66, 69, 83, 89). Wegen der oftmals geringen klinischen Symptomatik werden aber sicherlich nicht alle Zwischenfälle erfaßt.

Die nicht-hämolytische, febrile Transfusionsreaktion entsteht durch Alloimmunisierung, indem der Empfängerorganismus Antikörper gegen Bestandteile des transfundierten Blutes bildet.

Den größten Anteil haben dabei die HLA-Antikörper, die gegen Leukocyten und in geringerem Ausmaß gegen Thrombocyten gerichtet sind (3, 14, 45, 65, 75, 77, 83). Dabei korreliert die Menge der gebildeten Antikörper mit der Zahl der transfundierten Leukocyten und Thrombocyten (83). Der Antikörpertiter wiederum bestimmt die Häufigkeit und den Schweregrad der Transfusionsreaktion (3, 18, 37). So werden nach 10 Vollbluttransfusionen bei 25 %, nach 30 Transfusionen bei 50 % der Patienten HLA-Antikörper gefunden. Patienten mit durchgemachter Reaktion reagieren häufiger und heftiger nach erneuter Transfusion als Vergleichsgruppen (86).

Die nicht-hämolytische, febrile Transfusionsreaktion ist

demnach dosisabhängig, wobei in erster Linie die Zahl der Granulocyten entscheidend zu sein scheint (61, 77). Inwieweit hier auch granulocytenspezifische, nicht zum HLA-System gehörende Antikörper eine Rolle spielen, ist zur Zeit nicht geklärt (3, 53, 83). Gesichert ist, daß durch leukocyten- und thrombocytenarme Transfusionen Immunisierungen seltener sind und dem Auftreten von Unverträglichkeitsreaktionen vorgebeugt wird (36, 38, 55, 93).

Die Reaktion der Patienten mit Temperaturanstieg und gelegentlichem Schüttelfrost ist bei großen, individuellen Unterschieden normalerweise leicht (60, 83). In einzelnen Fällen, bei starker Reaktionsbereitschaft, kann das Fieber mit pulmonalen Symptomen wie Husten, Dyspnoe und Lungenödem verbunden sein (36, 60, 107). Sogar von Todesfällen wird berichtet (31, 112).

Im allgemeinen jedoch erweist sich die nicht-hämolytische Transfusionsreaktion für den Patienten als nicht lebensbedrohend, sie beeinträchtigt aber sein körperliches Befinden. Sie beunruhigt das medizinische Personal, erfordert unter Umständen erneute labormedizinische Untersuchungen und führt meistens zum Abbruch der Transfusion und damit der Therapie. Vor allem bei Patienten mit hämatologischen Erkrankungen, die chronisch transfusionsbedürftig sind, können beträchtliche Probleme daraus entstehen. Solche Transfusionszwischenfälle sollten daher sowohl im Interesse des Patienten als auch aus ökonomischen Gründen möglichst vermieden werden.

4.2.2. Weitere spezielle Indikationen für leukocyten- und thrombocytenarme Erythrocytenkonzentrate

Sind die beschriebenen HLA-Antikörper gegen Thrombocyten gerichtet, so kann der therapeutische Effekt von Thrombocytenkonzentraten ausbleiben (28, 58, 93). Für Patienten

mit bestimmten hämatologischen Erkrankungen kann dies unter Umständen lebensentscheidend sein. Auch Granulocyten von transfundierten Granulocytenkonzentraten können durch solche HLA-Antikörper vorzeitig zerstört werden (65).

Weiterhin ist die Immunisierung nach vorausgegangenen Transfusionen Hauptursache für die Abstoßung von Knochenmarkstransplantaten (19, 49, 65, 99). Bei prospektiven Transplantatempfängern sollte möglichst "leukocyten- und thrombocytenfreies" Blut transfundiert werden.

Die Transfusion von immunkompetenten Lymphocyten kann zu Graft-versus-host-Reaktionen beim Empfänger führen (36, 80). Eine möglichst geringe Anzahl von Lymphocyten im leukocytenarmen Konservenblut ist hier vorteilhaft.

4.2.3. Zur Problematik der in-vitro-Beurteilung von Verfahren zur Leukocyten- und Thrombocytenreduktion

Aufgrund der Erkenntnis, daß die Reaktion des Patienten von der Zahl der transfundierten Leukocyten abhängig ist, wurde versucht, die Zahl der Leukocyten pro Konserve anzugeben, mit der das Auftreten von Transfusionsreaktionen wahrscheinlich wird.

In einer Untersuchung mit sieben Patienten stellte PERKINS (77) fest, daß zur Auslösung eines Temperaturanstiegs von 1°C für jeden Patienten sehr unterschiedliche Mengen - von $0,25 \cdot 10^9$ bis zu $2,5 \cdot 10^9$ Leukocyten pro Konserve - erforderlich sind.

Andererseits konnte er zeigen, daß bei Leukocytenzahlen unter $0,5 \cdot 10^9$ pro Konserve im allgemeinen keine Reaktionen auftreten. Ähnliche Zahlen wurden von anderen Autoren genannt (18, 69). Man kann also annehmen, daß bei Leukocytenzahlen unter $0,5 \cdot 10^9$ pro Konserve Transfusionsreaktionen bei zuvor immunisierten Patienten sehr

unwahrscheinlich werden. Aus diesem Grunde hat dieser Wert in verschiedenen Untersuchungen als Maß für die Effektivität von Verfahren zur Leukocytenreduktion Eingang gefunden (16, 26, 45, 68, 70, 82, 94). HUGHES und MIJOVIC bezeichneten sie als "critical antigenic load for leuco-cyts" kurz CALL (45, 68).

Auch in der vorliegenden Untersuchung wurde diese Grenze als Anhalt für die klinische Bewertung der Reduktionsverfahren angesehen.

Dazu muß angemerkt werden, daß die üblichen Zählverfahren Fragmente oder Klumpen von Leukocyten, die in jeder Konserve in gewissem Ausmaß vorkommen, nicht erfassen. Diese besitzen aber möglicherweise ebenso immunogene Eigenschaften wie intakte Leukocyten (23, 38). Ihre Rolle bei der Auslösung von Transfusionsreaktionen wurde beim Aufstellen der CALL-Grenze nicht berücksichtigt. Dennoch gilt für die Praxis, daß die Gesamtzahl der Leukocyten pro Konserve in der Mehrzahl der Fälle ein ausreichendes Kriterium ist, um die Qualität eines leukocytenarmen Erythrocytenkonzentrates vor der Transfusion in vitro zu beurteilen.

Wie groß die Zahl der Leukocyten sein muß, um eine Immunisierung beim Patienten hervorzurufen, ist zur Zeit nach wie vor unbekannt (16, 68, 80). So muß empfohlen werden, bei prospektiven Transplantatempfängern möglichst leukocytenarmes, am besten "leukocytenfreies" Blut zur Transfusion zu verwenden.

4.2.4. Die allergische Reaktion auf Plasmaproteine des Konservenbluts als Indikation für plasmaproteinarme Erythrocytenkonzentrate

Gelegentlich sind Transfusionszwischenfälle auf Unverträglichkeitsreaktionen mit Plasmaproteinen zurückzuführen (35, 52, 79, 108). Gefährdet sind vor allem Personen mit

selektivem IgA-Mangel und Patienten, die mehrfach Blut- oder Plasmatransfusionen bekommen haben.

Die Reaktion äußert sich zumeist mit Fieber, Erythem oder Urticaria. Mit schweren anaphylaktischen Reaktionen muß besonders bei hohen Antikörpertitern gerechnet werden (79, 108). Dabei sollen z.B. wenige Milligramm IgA-Protein zur Auslösung einer Reaktion genügen. Bei gegebener Indikation sollte daher die Transfusion möglichst proteinarm sein.

4.2.5. Gegenüberstellung der untersuchten Verfahren zur Reduktion von Leukocyten, Thrombocyten und Plasmaproteinen in Erythrocytenkonzentraten

4.2.5.1. In-vitro-Wirksamkeit des 3maligen Waschens mit 0,9 %iger Natriumchloridlösung

Die Leukocytenzahl im 3mal gewaschenen Erythrocytenkonzentrat lag mit $0,27 \cdot 10^9$ Leukocyten pro Konserve deutlich unter der CALL-Grenze. Überraschenderweise erfüllte auch das 1mal gewaschene Erythrocytenkonzentrat mit $0,49 \cdot 10^9$ Leukocyten knapp diese Anforderung. Beide sind somit durchaus zur Prophylaxe von febrilen Transfusionsreaktionen geeignet. Die Leukocytenzahl in der transfusionsfertigen Konserve korrelierte nicht mit der initialen Leukocytenzahl im Ausgangsmaterial. Dies wurde auch bei den anderen Herstellungsverfahren beobachtet.

Die doch beträchtliche Reduktionsrate von 92,73 % im 3mal gewaschenen Erythrocytenkonzentrat wird in der Literatur (9, 59, 80, 101) meist niedriger angegeben. Die Abtrennung des Buffycoats vor den eigentlichen Waschvorgängen mag für die hohe Reduktionsrate in der vorliegenden Untersuchung ausschlaggebend gewesen sein. Granulocyten wurden durch Waschen offenbar effektiver als Lymphocyten entfernt, da

unter den restlichen Zellen Lymphocyten stark überwogen. Dies ist vorteilhaft, da in erster Linie Granulocyten zu nicht-hämolytischen Transfusionsreaktionen führen sollen.

Die Entfernung der Thrombocyten mit Reduktionsraten von 87,66 % bei den 1mal gewaschenen und 93,39 % bei den 3mal gewaschenen Erythrocytenkonzentraten übertraf sogar geringfügig die Leukocytenreduktion.

Plasmaproteine wurden durch das Waschen sehr effektiv entfernt, wobei jeder einzelne Waschvorgang zu einer weiteren Abnahme der Plasmaproteinmenge führte. Bei gegebener Indikation zur plasmaproteinarmen Transfusion empfiehlt sich das 3mal gewaschene Erythrocytenkonzentrat mit einer durchschnittlichen Proteinmenge von 0,34 mg pro Konserve. Das 1mal gewaschene Erythrocytenkonzentrat mit 79,21 mg Protein pro Konserve scheint dafür nicht geeignet.

Der Erythrocytenverlust nach 3maligem Waschen war mit 21,50 % beachtlich hoch, doch muß er in Kauf genommen werden, um eine effektive Leukocyten- und Thrombocytenreduktion zu erzielen. Wie sich in Vorversuchen zeigte, gelingt bei mehrmaligem Waschen nur dann eine schrittweise Steigerung der Leukocyten- und Thrombocytenreduktion, wenn die oberste, unter dem Buffycoat liegende Schicht mitabgepreßt wird. Wird das Buffycoatvolumen bewußt niedrig gehalten, um Erythrocyten einzusparen, so wird die Reduktion wesentlich ineffektiver. Ein Erythrocytenverlust von 20 % und mehr ist damit unvermeidbar.

Eine weitere Steigerung der Leukocyten- und Thrombocytenreduktion erscheint nicht möglich, da sich der Erythrocytenverlust in nicht vertretbarem Ausmaß erhöhen würde. Außerdem kommt es beim Abpreßvorgang immer zu einer gewissen Vermischung von Plasma, Buffycoat und Erythrocytenschicht, und kleine Buffycoatreste bleiben wiederholt am oberen Rand des Blutbeutels haften, ohne entfernt werden zu können.

Zusammenfassend kann das 3malige Waschverfahren als aus-

reichendes und einfaches Verfahren ohne großen apparativen Aufwand bezeichnet werden. Das mehrmalige Waschen per Hand ist allerdings zeitraubend und arbeitsintensiv, ohne die Effizienz der anderen untersuchten Verfahren zu erreichen. In diesem Sinne erscheint das Verfahren als nicht mehr zeitgemäß. Als hilfreich und einfach erweist es sich dagegen nach wie vor bei der Herstellung von plasmaproteinarmen Erythrocytenkonzentraten.

4.2.5.2. In-vitro-Wirksamkeit der Separation mit dem Trenngerät nach SCHNEIDER

Die in der Literatur (49, 87, 88) angegebene, hohe Reduktionsrate bei den Leukocyten konnte auch in der vorliegenden Untersuchung mit 97,31 % erzielt werden. Die durchschnittliche Leukocytenzahl pro Konserve betrug mit $0,08 \cdot 10^9$ Leukocyten nur ca. 1/6 der CALL-Menge. Damit wurde die Effektivität der Filtration und der Tiefkühlkonservierung bei allerdings größerer Schwankungsbreite um den Mittelwert nahezu erreicht.

Vorteilhaft ist auch, daß sich unter den restlichen Leukocyten nur wenige Granulocyten befanden. Zelltrümmer von Leukocyten fanden sich reichlich.

Die Thrombocytenreduktion blieb unter den von SCHNEIDER angegebenen Werten. Mit einem Restgehalt von $6,68 \cdot 10^9$ Thrombocyten pro Konserve und einer Reduktionsrate von 94,69 % wurden die Ergebnisse des 3maligen Waschverfahrens jedoch übertroffen. Durch zusätzliches 3maliges Waschen ließ sich die Zahl der Leukocyten immerhin nochmals um ca. 50 %, die Zahl der Thrombocyten um ca. 60 % verringern. Dies würde in der Praxis allerdings zu unverhältnismäßig großem Aufwand und noch größerem Erythrocytenverlust führen.

Der Erythrocytenverlust ist mit 21,44 % ähnlich hoch wie bei den 3mal gewaschenen Erythrocytenkonzentraten. Eine bessere Erythrocytenausbeute erscheint nicht möglich, da sich beim Trennungsvorgang aufgrund der Druckverhältnisse im oberen und unteren Teil des Beutels die Erythrocyten-Plasmagrenze über den Trennbalken anhebt, und die oberste Erythrocytenschicht damit mit dem Buffcoat abgeleitet wird. Wie von SCHNEIDER (88) empfohlen, wurde versucht, durch manuellen Gegendruck das Ansteigen zu verhindern, doch war der Druck im unteren Teil bei der Abschnürung zu hoch. Die Erythrocytenausbeute in der vorliegenden Untersuchung ist sicherlich nahe am Optimum. In einer Untersuchung von KRETSCHMER (49) wurde sogar ein Erythrocytenverlust von 26 % bis 30 % der Ausgangserythrocytenmenge angegeben.

Plasmaproteine wurden ungenügend reduziert. Nur durch zusätzliches Waschen könnten die Erythrocytenkonzentrate bei Plasmaproteinunverträglichkeit eingesetzt werden.

Hervorzuheben sind Einfachheit, geringer technischer Aufwand und damit geringe Anschaffungskosten dieses Verfahrens. Im Vergleich zu den 3mal gewaschenen Erythrocytenkonzentraten ist die Effizienz der Reduktion höher und der Arbeitsvorgang kürzer.

Nachteilig ist, daß aufgrund des hohen Gehalts von Leucocyten und Thrombocyten kein Frischblut zur Präparation verwendet werden kann.

4.2.5.3. In-vitro-Wirksamkeit der automatischen Filtration mit Cellulose-Acetatfiltern

Mit einem Restgehalt von $0,03 \cdot 10^9$ Leukocyten pro Konserve und der Reduktionsrate von 99,12 % erfüllte das gefilterte Erythrocytenkonzentrat nahezu die Forderung nach einem "leukocytenfreien" Erythrocytenkonzentrat. Nur im

tiefkühlkonservierten Erythrocytenkonzentrat lag die verbliebene Zahl an Leukocyten noch geringfügig darunter. Das Erythrocytenkonzentrat nach dem SCHNEIDER-Trennverfahren enthielt durchschnittlich mehr als doppelt so viel Leukocyten. Zwar waren in dieser Untersuchungsreihe in allen gefilterten Konserven einige wenige Leukocyten auffindbar, doch erscheint die von DIEPENHORST und MÜLLER (26, 70) gemachte Beobachtung, daß in einzelnen Konserven überhaupt keine Leukocyten nachweisbar sind, vorstellbar.

Die wenigen intakten Leukocyten konnten eindeutig als Lymphocyten identifiziert werden.

Thrombocyten konnten durch Filtration nicht in dem Ausmaß wie Leukocyten entfernt werden. Dies bestätigt sich auch in anderen Untersuchungen (26, 80). Mit einem Restgehalt von $5,90 \cdot 10^9$ Thrombocyten pro Konserve war die Thrombocytenreduktion aber noch effektiver als im Erythrocytenkonzentrat nach dem SCHNEIDER-Trennverfahren oder dem 3mal gewaschenen Erythrocytenkonzentrat.

Interessanterweise wurde die Zahl der Leukocyten und Thrombocyten durch anschließendes Waschen mit 0,9 %iger Natriumchloridlösung weiter reduziert. Dies kann im Einzelfall von klinischer Bedeutung sein. DIEPENHORST (26) berichtet von Patienten, bei denen erst nach einem zusätzlichen Waschen von gefilterten Erythrocytenkonzentraten Fieberreaktionen vermieden werden konnten. Offenbar waren noch genügend Leukocyten und Thrombocyten im gefilterten Blut vorhanden, um Transfusionsreaktionen auszulösen. In solchen Fällen scheint der zusätzliche Aufwand des mehrmaligen Waschens im Interesse des Patienten gerechtfertigt. Da die Präparation einen Waschvorgang beinhaltet, bietet das gefilterte, transfusionsfertige Erythrocytenkonzentrat weitere Vorteile. Unter anderem ist die Plasmaproteinmenge bereits herabgesetzt.

Ein entscheidender Vorteil der Filtrationsmethode ist im geringen Erythrocytenverlust bei der Präparation zu sehen.

Der Filtrationsvorgang alleine führt zu einem minimalen Verlust von 5,69 %. Berücksichtigt man den Verlust bei der Herstellung des Standarderythrocytenkonzentrats als Ausgangsmaterial für die Filtration, so ergibt sich ein Wert von 13,58 %. Diese Zunahme des Erythrocytenverlusts erscheint akzeptabel, da bei Verwendung von buffycoat-freien Erythrocytenkonzentraten zur Filtration auch die Reduktion effektiver wird. Zudem gehen auch unter diesen Voraussetzungen noch weniger Erythrocyten bei der Präparation verloren als bei den anderen Herstellungsmethoden, wodurch auch zusätzliche Waschvorgänge vertretbar werden.

Erwähnt werden sollte, daß die hohe Effizienz des Verfahrens nur bei Verwendung des hier eingesetzten Filters erwartet werden kann. Bei Verwendung anderer käuflicher Filter muß mit weniger guten Ergebnissen gerechnet werden (68, 80).

Der gesamte Präparationsvorgang erfordert gleich viel Zeit wie die Separation mit dem Trenngerät nach SCHNEIDER. Wesentlich mehr Zeit bedarf es beim 3maligen Waschverfahren oder gar der Tiefkühlkonservierung. Zudem ist die benützte automatische Filtrationseinrichtung einfach zu bedienen. Nachteilig sind die hohen Anschaffungskosten sowie eventuell anfallende Reparaturen. Die Vorteile überwiegen jedoch bei weitem, so daß die automatische Filtration als Methode der Wahl unter den vier geprüften Verfahren bezeichnet werden kann.

4.2.5.4. In-vitro-Wirksamkeit der Tiefkühlkonservierung mit glycerinarmer Gefrierlösung

Obwohl die Reduktionsrate bei den gefilterten Erythrocytenkonzentraten etwas höher lag, wiesen die tiefkühlkonservierten Erythrocytenkonzentrate mit durchschnittlich

$0,02 \cdot 10^9$ die geringste Leukocytenzahl pro Konserve auf. Der Restgehalt an Leukocyten belief sich somit auf $1/25$ des CALL-Wertes. Ein tiefkühlkonserviertes Erythrocytenkonzentrat ist somit nahezu "leukocytenfrei".

Hier muß angemerkt werden, daß diese Bezeichnung für tiefkühlkonservierte Erythrocytenkonzentrate nicht unbedingt mit "HLA-antigenfrei" gleichzusetzen ist. Im Labortest konnte man selbst bei völligem Fehlen von Leukocyten HLA-Antikörperbildung durch tiefkühlkonserviertes Blut beobachten (67). Ob dafür die Zellfragmente analog zu Punkt 4.2.3. oder lösliche Antigene verantwortlich zu machen sind, ist nicht bekannt (24). Tiefkühlkonservierte oder gefilterte Erythrocytenkonzentrate kommen aber der Idealvorstellung vom "HLA-antigenfreien" Blut wohl am nächsten.

In der transfusionsfertigen Konserve erweisen sich die intakten Leukocyten wiederum ausschließlich als Lymphocyten. Sie scheinen gegenüber der schädigenden Wirkung des Glycerins und der Kälte resistenter zu sein (20). Auf die Bedeutung des Fehlens von Granulocyten ist in Punkt 4.2.5.1. hingewiesen worden.

Auch bei den Thrombocyten war die durchschnittliche Zellzahl von $1,58 \cdot 10^9$ pro Konserve niedriger als bei allen anderen Herstellungsverfahren.

Plasmaproteine waren mit der Lowry-Bestimmungsmethode nicht mehr nachweisbar nach Abzug der Proteinmenge, die auf das freie Hämoglobin im Überstand entfiel. GRAY (38) gibt den Proteingehalt ebenfalls nach Berücksichtigung des freien Hämoglobins mit $0,10$ g/100 ml an, wobei zur Messung allerdings die nicht so empfindliche Biuret-Methode benützt wurde. CROWLEY und VALERI (21) stellten nach radioaktiver Markierung von Albumin einen Proteingehalt von $0,3$ mg/100 ml fest, MERYMAN et al. (61) fanden in tiefkühlkonservierten Erythrocytenkonzentraten noch $0,002$ bis $0,004$ ml Plasma pro Konserve. Demnach ist die Proteinmenge

von tiefkühlkonservierten Erythrocytenkonzentraten mit Null oder nahezu Null zu veranschlagen. Im klinischen Sprachgebrauch hat sich die Bezeichnung "plasmaprotein-frei" für tiefkühlkonservierte Erythrocytenkonzentrate eingebürgert (105). Nach der vorliegenden Untersuchung ist diese Bezeichnung gerechtfertigt.

Der Erythrocytenverlust bei der Präparation wird im allgemeinen mit rund 20 % angegeben (38, 91). In dieser Untersuchungsreihe lag er bei 28,08 % und war damit größer als bei den anderen Herstellungsverfahren. Die Ursache für diesen beträchtlichen Verlust ist darin zu sehen, daß beim Abpressen der Waschlösungen und des kleinen Buffy-coatsaums zwangsläufig auch die dünne, oberste Erythrocytenschicht mitentfernt wird. Dieser Abpreßvorgang ist wenig standardisierbar und erfolgt völlig nach Augenmaß. Möglicherweise ließe sich das Buffycoatvolumen und damit der Erythrocytenverlust etwas niedriger halten bei ähnlich guten Ergebnissen der Leukocyten- und Thrombocytenreduktion. Waschen mit halbautomatischen Waschvorrichtungen soll ebenfalls Erythrocyten einsparen (62).

Nicht vergessen sollte man, daß die Herstellung und Lagerung von tiefkühlkonservierten Erythrocytenkonzentraten apparativ sehr aufwendig ist. In dieser Hinsicht sind die anderen Präparationsmethoden wesentlich günstiger. Die Präparation erfordert außerdem sehr viel Zeit, wobei vor allem das schrittweise Deglycerolisieren etwas umständlich ist. Beide Faktoren verursachen die hohen Kosten dieser Herstellungsmethode. Die Transfusion von tiefkühlkonserviertem Blut sollte deswegen auf die speziellen Indikationen beschränkt bleiben.

4.2.5.5. Klinische Bedeutung der Ergebnisse

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß es unnötig ist, alle vier untersuchten Verfahren zur Herstellung von leukocyten-, thrombocyten- und plasmaproteinarmen Erythrocytenkonzentraten gleichzeitig in einer Blutbank zu betreiben. Ein Nebeneinander von verschiedenen Methoden erscheint nur sinnvoll, wenn sie sich ergänzen oder wie das tiefkühlkonservierte Erythrocytenkonzentrat eine Sonderstellung aufgrund seiner Haltbarkeit einnehmen.

Je nach gegebener Indikation empfehlen sich folgende Präparationsmethoden:

Prophylaxe der nicht-hämolytischen, febrilen Transfusionsreaktion

Die erhaltenen Ergebnisse weisen darauf hin, daß in vielen Fällen die Verwendung eines 1mal gewaschenen Erythrocytenkonzentrats genügen würde, um Fieberreaktionen zu vermeiden. Bei etwa gleichem zeitlichem Aufwand ist der Einsatz von gefilterten Erythrocytenkonzentraten oder Erythrocytenkonzentraten nach dem SCHNEIDER-Trennverfahren aber wesentlich sicherer. Das 1mal gewaschene Erythrocytenkonzentrat ist dem buffycoat-freien Erythrocytenkonzentrat jedoch in jedem Fall überlegen.

Das 3mal gewaschene Erythrocytenkonzentrat erscheint nicht mehr zeitgemäß, obwohl prinzipiell einsetzbar. Bei der Reduktion von Leukocyten und Thrombocyten besitzt es nicht die Effektivität der automatischen Filtration oder des Trennverfahrens nach Schneider. Der verfahrensbedingte Erythrocytenverlust ist gegenüber der Filtration größer.

Für die Separation mit dem Trenngerät nach SCHNEIDER sprechen die hohen Reduktionsraten und die Einfachheit der Methode. Im Zweifelsfall ist jedoch der Filtration aufgrund des kleineren Erythrocytenverlustes und der noch größeren

Effektivität der Vorzug zu geben. Trotz der relativ hohen Herstellungskosten muß die automatische Filtration von Erythrocytenkonzentraten bei der vorliegenden Indikation als Methode der Wahl bezeichnet werden.

Tiefkühlkonservierte Erythrocytenkonzentrate sind selbstverständlich bestens geeignet, Fieberreaktionen zu vermeiden, doch dürfte ihr Einsatz bei dieser Indikation unnötig sein. Gefilterte Erythrocytenkonzentrate können mit gleicher Sicherheit transfundiert werden, bieten eine größere Erythrocytenausbeute und erfordern weniger Zeit und Kosten bei der Herstellung.

Prophylaxe der Immunisierung des Patienten

Soll eine Immunisierung beim Patienten auf alle Fälle vermieden werden, so können wahlweise tiefkühlkonservierte oder gefilterte Erythrocytenkonzentrate transfundiert werden. Zusätzliches Waschen nach der Filtration muß als sinnvolle Maßnahme bezeichnet werden.

Der Einsatz von Erythrocytenkonzentraten, die mit dem Trenngerät nach SCHNEIDER erstellt worden sind, ist denkbar, aus den schon genannten Gründen jedoch nur sekundär in Betracht zu ziehen.

3mal gewaschene Erythrocytenkonzentrate kommen bei dieser Indikation nicht in Frage wegen des vergleichsweise hohen Restgehalts an Leukocyten und Thrombocyten.

Prophylaxe von Plasmaunverträglichkeitsreaktionen

Bei Risikopatienten oder Patienten mit allergischen Reaktionen in der Anamnese eignen sich tiefkühlkonservierte oder 3mal gewaschene Erythrocytenkonzentrate. Unsere Ergebnisse weisen darauf hin, daß den tiefkühlkonservierten Erythrocytenkonzentraten hierbei der Vorzug einzuräumen ist.

Gefilterte Erythrocytenkonzentrate oder Erythrocytenkonzentrate nach dem SCHNEIDER-Trennverfahren können eingesetzt werden, wenn nach der Präparation zusätzliche Waschvorgänge durchgeführt werden.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Arbeit enthält Untersuchungen zur Herstellung und Qualität des buffycoat-freien Erythrocytenkonzentrats, dem wichtigsten Bestandteil der Komponententherapie in der Transfusionsmedizin.

Im ersten Teil der Arbeit wurde untersucht, inwieweit das Alter einer CPDA-1 Konserve zum Zeitpunkt der Erythrocytenkonzentratherstellung die Qualität und das Lagerungsverhalten dieses Erythrocytenkonzentrats beeinflusst.

Anhand der überprüften Lagerungsparameter zeigte sich, daß verschieden lange gelagertes Vollblut jederzeit in ein Erythrocytenkonzentrat umgewandelt werden kann, ohne daß die Qualität der Konserve beeinträchtigt wird. So gewonnene Erythrocytenkonzentrate waren außerdem qualitativ gleichwertig zu gleich alten Erythrocytenkonzentraten, die schon kurz nach der Blutentnahme hergestellt worden waren. Die Geschwindigkeit des Qualitätsverlustes eines Erythrocytenkonzentrats bei fortgesetzter Lagerung war unabhängig vom Zeitpunkt der Umwandlung der Vollblutkonserve zum Erythrocytenkonzentrat.

Unterschiede ergaben sich hinsichtlich Kaliumkonzentration und Kaliummenge pro Konserve, da diese vom Zeitpunkt der Erythrocytenkonzentratherstellung abhängig waren. Je später die Erythrocytenkonzentrate entstanden waren, um so geringer waren Konzentration und Menge an Kalium in der untersuchten Konserve. Die Herstellung des Erythrocytenkonzentrats unmittelbar vor der Transfusion bietet den Vorteil einer relativ kaliumarmen Transfusion.

Tiefkühlkonservierte Erythrocytenkonzentrate waren qua-

litativ gleichzusetzen mit frisch gelagerten Erythrocytenkonzentraten. Hervorzuheben ist besonders der relativ kleine Abfall der 2,3-Diphosphoglyceratkonzentration um nur 30 % des Ausgangswertes, die minimale Kaliumkonzentration und der geringe pH-Abfall auf den Wert eines etwa 1 Woche alten herkömmlich gelagerten Erythrocytenkonzentrats.

Im zweiten Teil wurde die Effektivität von 4 verschiedenen Verfahren zur Herstellung von leukocyten- und thrombocytenarmen Erythrocytenkonzentraten überprüft. Durch Transfusion solcher Erythrocytenkonzentrate läßt sich die Immunisierung gegen Leukocyten und Thrombocyten und das Auftreten von nichthämolytischen Transfusionsreaktionen bei HLA-immunisierten Patienten vermeiden. Gleichzeitig wurde untersucht, inwieweit sich diese Methoden auch zur Reduktion von Plasmaproteinen in Erythrocytenkonzentraten eignen.

1-maliges, manuelles Waschen der Erythrocytenkonzentrate mit 0,9 %iger Natriumchloridlösung dürfte bei $0,49 \cdot 10^9$ Leukocyten pro Konserve (13,06 % der Ausgangszahl) in vielen Fällen ausreichen, um nicht-hämolytische Transfusionsreaktionen zu umgehen. In jedem Fall sind sie den einfachen buffycoat-freien Erythrocytenkonzentraten überlegen ($0,83 \cdot 10^9$ Leukocyten/Konserve bzw. 21,27 %).

3maliges Waschen der Erythrocytenkonzentrate reduzierte die Leukocytenzahl auf $0,27 \cdot 10^9$ pro Konserve (7,27 %) und die Thrombocytenzahl auf $9,62 \cdot 10^9$ pro Konserve (6,61 %). Die Herstellung per Hand erwies sich als sehr arbeitsintensiv und führte zu einem beträchtlichen Erythrocytenverlust von 21,50 % der Ausgangsmenge. Im Vergleich war dieses Verfahren den anderen untersuchten Methoden unterlegen.

Für die Herstellung von plasmaproteinarmen Erythrocytenkonzentraten dagegen erwies sich das 3malige Waschverfahren mit 0,34 mg Protein pro Konserve als sehr effektiv.

Die Separation mit dem Trenngerät nach Schneider bestach durch Einfachheit der Methode und hohe Leukocyten- und Thrombocytenreduktion. In der transfusionsfertigen Konserve fanden sich noch $0,08 \cdot 10^9$ Leukocyten (2,69 %) und $6,68 \cdot 10^9$ Thrombocyten (5,31 %). Nachteilig ist aber, daß bei der Präparation 21,44 % der Erythrocyten verloren gehen. Damit kommen auch zusätzliche Waschvorgänge nicht in Frage, da der Erythrocytenverlust unverhältnismäßig ansteigen würde.

Nach automatischer Filtration mit Cellulose-Acetatfiltern verblieben noch $0,03 \cdot 10^9$ Leukocyten (0,88 %) und $5,90 \cdot 10^9$ Thrombocyten (3,85 %) im Erythrocytenkonzentrat. Gefilterte Erythrocytenkonzentrate könnte man somit nahezu als "leukocytenfrei" bezeichnen. Der verfahrensbedingte Erythrocytenverlust war mit 13,58 % der Erythrocyten niedriger als bei den anderen untersuchten Methoden. Der Herstellungsvorgang erforderte gleich viel Zeit wie bei der Separationsmethode nach SCHNEIDER, aber weniger als das 3malige Waschverfahren oder gar die Tiefkühlkonservierung. Durch zusätzliche Waschvorgänge gelang es, die Leukocyten- und Thrombocytenzahl weiter zu reduzieren bei akzeptablem zusätzlichem Erythrocytenverlust. Dies kann in Einzelfällen eine sinnvolle therapeutische Maßnahme sein.

Mittels Tiefkühlkonservierung wurde die Leukocytenzahl äußerst wirkungsvoll auf $0,02 \cdot 10^9$ pro Konserve (0,55 %) und die Thrombocytenzahl auf $1,58 \cdot 10^9$ pro Konserve (1,11 %) reduziert. Da die Präparation zeitlich und appa-

rativ sehr aufwendig ist und keine wesentlich bessere Leukocyten- und Thrombocytenreduktion aufweist als die automatische Filtration, empfiehlt sich letztere bei der Herstellung von leukocyten- und thrombocytenarmen Erythrocytenkonzentraten als Methode der Wahl.

Dagegen können Plasmaunverträglichkeitsreaktionen wohl am besten mit tiefkühlkonservierten Erythrocytenkonzentraten vermieden werden. In der vorliegenden Untersuchung konnten keine meßbaren Mengen an Plasmaproteinen in tiefkühlkonservierten Erythrocytenkonzentraten nachgewiesen werden.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. Arndt-Hanser, A., et al.:
Die Bereitstellung von Blut und Blutkomponenten für
den Kliniker
Klin. Anaesth. Intensivmed. 21 : 80 - 93 (1980)
2. Bailey, D.N., Bove, J.R.:
Chemical and hematological changes in stored CPD blood
Transfusion 15 : 244 - 249 (1975)
3. Bashir, H.:
Adverse reactions due to leucocyte and platelet
antibodies
Anaesth. Intens. Care 8 : 132 - 138 (1980)
4. Baue, A.E., Hermann, G., Shaw, R.S.:
Study of bank blood toxicity
Surg. Gynecol. Obst. 113 : 40 - 46 (1961)
5. Benson, R.E., et al.:
Massive blood transfusion
Anaesth. Intens. Care 8 : 152 - 157 (1980)
6. Bergmann, H.:
Blutbestandteile - Therapie: Differentialindikation
zur Erythrocytengabe
Infusionsther. Klin. Ernährung 7 : 184 - 189 (1980)
7. Bergmeyer, H.U., Berut, E., et al.:
Methoden der enzymatischen Analyse
Verlag Chemie Weinheim 1974

8. Beutler, E., et al.:
The storage of hard-packed red blood cells in
citrate-phosphate-dextrose (CPD) and CPD-adenine
(CPDA-1)
Blood 54 : 216 - 225 (1979)
9. Beutler, E., West, C., Blume, K.G.:
The removal of leukocytes and platelets from whole
blood
J. Lab. Clin. Med. 88 : 328 - 333 (1976)
10. Beutler, E., Wood, L.:
The in vivo regeneration of red cell 2,3 diphospho-
glyceric acid (DPG) after transfusion of stored blood
J. Lab. Clin. Med. 74 : 300 - 307 (1968)
11. Bowen, J.C., Fleming, W.H.:
Increased oxyhemoglobin affinity after transfusion
of stored blood
Ann. Surg. 180 : 760 (1974)
12. Boyan, H.:
Herzstillstand bei Massivtransfusionen
in: Anaesthesiologie und Wiederbelebung
Vol. 90
Springer Berlin/Heidelberg/New York 1975
13. Brand, A., Claas, F.H.J., et al.:
Incidence of platelet refractoriness and allo-
immunization after leukocyte-depleted blood and
platelet transfusions
Symposium No 34
Abstracts of the 18th Congress of the International
Society of Blood Transfusion
Munich, July 22 - 27, 1984

14. Brittingham, T.E., Chaplin, H.Jr.:
Febrile transfusion reactions caused by sensitivity
to donor leukocytes and platelets
J. Am. med. Ass. 165 : 819 - 825 (1957)
15. Broadie, T.A., Hermann, C.M.:
Oxygen consumption from fresh versus 21 day old
ACD whole blood
J. Trauma. 18 : 381 (1978)
16. Buchholz, D.H., Charette, J.R., Bove, J.R.:
Preparation of leucocyte-poor red blood cells using
the IBM 2991 blood cell processor
Transfusion 18 : 653 - 662 (1978)
17. Busch, H., v. Eisenhart-Rothe, B.:
Alte und neue Gefahren der Blutübertragung
Münch. med. Wochenzeitschrift 22 : 713 - 718 (1976)
18. Cepellini, R., Celada, F., et al.:
Study of the possible correlation between blood
antigens and histocompatibility in man
Ann. N. Y. Acad. Science 120 : 335 - 347 (1964)
19. Class, F.H.J., van Rood, J.J., Warren R.P., et al.:
The detection of non-HLA antibodies and their
possible role in bone marrow graft rejection
Transplant. Proc. 11 : 423 - 426 (1979)
20. Crowley, J.P., Valeri, C.R.:
The purification of red cells for transfusion by
freeze-preservation and washing
I The mechanism of leucocyte removal from washed,
freeze-preserved red cells
Transfusion 14 : 188 - 195 (1974)

21. Crowley, J.P., Valeri, C.R.:
The purification of red cells for transfusion by
freeze-preservation and washing
II The residual leucocytes, platelets and plasma
in washed, freeze-preserved red cells
Transfusion 14 : 196 - 201 (1974)
22. Crowley, J.P., Valeri, C.R.:
The purification of red cells for transfusion by
freeze-preservation and washing
III Leucocyte removal and red cell recovery after
red cell freeze-preservation by the high or low
concentration method
Transfusion 14 : 590 - 594 (1974)
23. Crowley, J.P., O'Donnell, M., Sell, K.W., Valeri, C.R.:
The purification of red cells for transfusion by
freeze-preservation and washing
IV The use of micropore filtration to reduce the
residual HLA-antigenicity of previously frozen,
washed red cells
Transfusion 15 : 34 - 38 (1975)
24. Crowley, J.P., Valeri, C.R.:
The purification of red cells for transfusion by
freeze-preservation and washing
V Red cell recovery and residual leucocytes after
freeze-preservation with high concentrations of
glycerol and washing in various systems
Transfusion 17 : 1 - 7 (1977)
25. Dennis, R.C.:
Transfusion of 2,3 DPG - enriched red blood cells to
improve cardiac function
Ann. Thorac. Surg. 26 : 17 - 26 (1978)

26. Diepenhorst, P., Engelfriet, C.P.:
Removal of leucocytes from whole blood and erythrocyte suspensions by filtration through cotton wool.
V Results after transfusion of 1820 units of filtered erythrocytes
Vox. Sang. 29 : 15 - 22 (1975)
27. Eckart, J., et al.:
Probleme der Massivtransfusion
Infusionsther. Klin. Ernährung 5 : 346 - 352 (1978)
28. Eernisse, J.G., Brand, A.:
Prevention of platelet refractoriness due to HLA antibodies by administration of Leucocyte-poor blood components
Exp. Hematol. Copenh. 9 : 77 - 83 (1981)
29. Engelfriet, C.P., et al.:
Removal of leucocytes from whole blood and erythrocyte suspensions by filtration through cotton wool
IV Immunization studies in rabbits
Vox. Sang. 28 : 81 - 89 (1975)
30. Ericson, A., Verdier, C.H. de:
A modified method for the determination of 2,3-diphosphoglycerate in erythrocytes
Scand. J. Clin. Lab Inv. 29 : 85 - 90 (1972)
31. Felbo, M., Jensen, K.G.:
Death in childbirth following transfusion of leucocyte-incompatible blood
Acta Haemat. 27 : 113 - 119 (1962)

32. Ganzoni, A.M., et al.:
Das buffycoat-freie Erythrocytenkonzentrat:
Eckpfeiler eines Blutkomponentenprogramms
Dtsch. Med. Wochenschrift 103 : 1526 - 1531 (1978)
33. Ganzoni, A.M., Reuff, U., Stampe, P., Koerner, K.,
Kilian, K.:
Mikroaggregate in gelagertem Blut.
Vergleichende Untersuchungen an Vollblut und buffy-
coat-freiem Erythrocytenkonzentrat
Anaesthesist 27 : 115 - 188 (1978)
34. Gibson, J.G., Searle, B.R., et al.:
A citrate-phosphate-dextrose solution for the
preservation of human blood
Am. J. Clinical Path. 107 : 569 - 578 (1957)
35. Gleichmann, H., Breininger, J.:
Over 95 % sensitisation against allogenic leucocytes
following single massive blood transfusion
Vox. Sang. 28 : 66 - 70 (1975)
36. Goldfinger, D., et al.:
Prevention of adverse reactions to blood transfusion
by the administration of saline-washed red blood
cells
Transfusion 21 : 277 - 80 (1981)
37. Goldmann, S.F., et al.:
Removal of buffy coat from stored ACD blood by
dextran agglomeration and subsequent filtration
Vox. Sang. 25 : 470 - 473 (1973)

38. Gray, E., et al.:
Preparation of leucocyte-poor blood:
a comparison of IBM 2991 washing and Huggins freeze-
thawing
Vox. Sang. 40 : 323 - 328 (1981)
39. Halterman, R.H., Grumet, F.C., Watson, J.,
Yanchulis, E., Yankee, R.A.:
Comparison of methods for the preparation of
leucocyte-poor blood
Transfusion 12 : 23 - 26 (1972)
40. Harken, A.H.:
The surgical significance of the oxyhemoglobin
dissociation curve
Surg. Gynecol. Obstet. 144 : 935 (1977)
41. Hillmann, G., Beyer, G.:
Trübungstest mit TPB-Na zur photometrischen Bestim-
mung von Kalium im Serum und Plasma
Z. Klin. Chem. u. Klin. Biochem. 5 : 93 (1967)
42. Högman, C.F.:
Oxygen affinity of stored blood
Acta. Anaesth. Scand. 15 : 53 - 58 (1971)
43. Hollan, S.R.:
Molekulare Basis und Regulationsmechanismen der
O₂-Abgabe
in: Anaesthesiologie und Wiederbelebung Vol. 90
Springer Berlin/Heidelberg/New York 1975
44. Howland, W.S., Schweizer, O.:
Potassium levels, acid base balance and massive
transfusion
Anaesthesiology 23 : 735 - 740 (1962)

45. Hughes, A., Mijovic, V., et al.:
Leucocyte-depleted blood: a comparison of cell-
washing techniques
Vox. Sang. 42 : 145 - 150 (1982)
46. Kikugawa, K., Minoshima, K.:
Filter columns for preparation of leucocyte-poor
blood for transfusion
Vox. Sang. 34 : 281 - 290 (1978)
47. Koerner, K., Kohne, E., Kleihauer, E., Ganzoni, A.M.:
In vitro Untersuchungen von Vollblut und buffycoat-
freiem Erythrocytenkonzentrat in ACD-Adenin
Forschungsergeb. in Transfusionsmed. u. Immun-
hämatologie 5 : 505 - 507 (1978)
48. Kretschmer, V.:
Gezielte Hämotherapie
Anaesthesie, Intensivther. Notfallmed. 15 : 189 - 200
(1980)
49. Kretschmer, V., Schmalhorst, M., Müller-Eckhart, C.:
Einfache und effiziente Separationsmethode für
leukocytenarme Erythrocytenkonzentrate
Sonderdruck
50. Kurtz, S.R., Valeri, D.A., Melaragno, A.J., et al.:
Leukocyte-poor red blood cells prepared by the
addition and removal of glycerol from red blood cell
concentrates stored at 4°C
Transfusion 21 : 435 - 442 (1981)
51. Landauer, B.:
Narkoseprobleme bei Massivtransfusion
Anaesthesist 27 : 234 - 242 (1978)

52. Latham, J.T., Bove, J.R., Weirich, F.L.:
Chemical and hematologic changes in CPDA-1 blood
Transfusion 22 : 158 - 159 (1982)
53. Lehmann, H.:
Komplikationen der Bluttransfusion
Intensivmed. Praxis 5 : 81 - 92 (1982)
54. Le Veen, H., Pasternak, S., Lustrin, J., et al.:
Hemorrhage and transfusion as the major cause of
cardiac arrest
J. Amer. med. Ass. 173 : 770 - 777 (1960)
55. Liéden, G., Hildén, J.O.:
Febrile transfusion reactions reduced by use of
buffycoat-poor erythrocyte concentrates
Vox. Sang. 43 : 263 - 265 (1982)
56. Limbird, T.J., Silver, D.:
Sequential changes in blood preserved with citrate-
phosphate-dextrose
Surg. Gynecol. Obstet. 138 : 401 - 403 (1974)
57. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J.; et al.:
A method for determination of protein
J. biol. Chem. 193 : 265 (1951)
58. MacPherson, R.B., et al.:
Antileukocyte antibodies in patients refractory to
platelet transfusions
Am. J. Clin. Pathol. 72 : 893 - 897 (1979)
59. McConn, R., Derrick, J.B.:
The respiratory function of blood: transfusion and
blood storage
Anaesthesiology 36 : 119 - 121 (1972)

60. Menitove, J.E., et al.:
Febrile transfusion reaction: what blood component
should be given next?
Vox. Sang. 42 : 318 - 321 (1982)
61. Meryman, H.T., Bross, J., Lebovitz, R.:
The preparation of leucocyte-poor red blood cells:
a comparative study
Transfusion 20 : 285 - 292 (1980)
62. Meryman, H.T., Hornblower, M.:
Red cell recovery and leukocyte depletion following
washing of frozen-thawed red cells
Transfusion 13 : 388 - 393 (1973)
63. Messeter, L., et al.:
CPD-Adenine as a blood preservative
- studies in vitro and in vivo
Transfusion 17 : 210 - 217 (1977)
64. Michael, J.M., Dorner, J., Bruns, D., Ladenson, J.H.,
Sherman, L.A.:
Potassium load in CPD-preserved whole blood and two
types of packed red blood cells
Transfusion 15 : 144 - 149 (1975)
65. Miller W.V., Wilson, M.J., Kalb, H.J.:
Simple methods for production of HLA-Antigen poor
red blood cells
Transfusion 13 : 189 - 193 (1973)
66. Milner, L.V., et al.:
Transfusion reactions reported after transfusion
of red blood cells and of whole blood
Transfusion 18 : 493 - 495 (1978)

67. Minchinton, R.M., Waters, A.H., Baker, L.R.,
Cattell, W.R.:
Platelet, granulocyte and HLA antibodies in renal
dialysis patients transfused with frozen blood
Br. med. J. 281 : 113 - 114 (1980)
68. Mijovic, V., Brozovic, A., Hughes, A.S.B., Davies, T.D.:
Leukocyte-depleted blood
A comparison of filtration techniques
Transfusion 23 : 30 - 32 (1983)
69. Mollison, P.C.:
Blood transfusion in clinical medicine
Blackwell Oxford 1979
70. Müller, N., Danckworth, H.P., Mauch, H.P., Roth, H.:
Leukocytenarme Blutkonserven: Effektivität der auto-
matischen Filtration mit Cellulose-Acetatfiltern
Vortrag Nr. 39
19. Kongreß der Deutschen Gesellschaft für Blut-
transfusion und Immunhämatologie
Linz/Österreich 28.-31.5.1980
71. Myhre, B.A.:
Studies on 4°C frozen-restituted red blood cells.
II Chemical and cytological changes during storage
Transfusion 18 : 29 - 37 (1978)
72. Ness, P.M., Frey, E., Perkins, H.A.:
Improved blood utilization with leukocyte-poor cell
masses by cell washing
Transfusion 21 : 124 - 126 (1981)
73. O'Connor Wooten, M.J.:
Use and analysis of saline washed red blood cells
Transfusion 16 : 464 - 468 (1976)

74. Orlina, A.R., Josephson, A.M.:
Comparative viability of blood stored in ACD and
CPD
Transfusion 9 : 62 - 64 (1969)
75. Payne, R.:
The association of febrile transfusion reactions
with leuko-agglutinins
Vox. Sang. 2 : 233 - 241 (1957)
76. Pegg, D.E.:
The effect of cell concentration on the recovery
of human erythrocytes after freezing and thawing
in the presence of glycerol
Cryobiology 18 : 221 - 228 (1981)
77. Perkins, H.A., Payne, R., Ferguson, J., Wood, M.:
Non-Hemolytic febrile transfusion reactions.
Quantitative effects of blood components with
emphasis on iso-antigenic incompatibility of
leucocytes
Vox. Sang. II : 578 - 600 (1966)
78. Perkins, H.A., Senecal, J., Howell, E.:
Leucocyte contamination of red cells in leucocyte-
poor and frozen deglycerolized units
Transfusion 13 : 194 - 199 (1973)
79. Pineda, A.A., Taswell, H.F.:
Transfusion reactions associated with anti-IgA
antibodies: report of four cases and review of the
literature
Transfusion 15 : 10 - 14 (1975)

80. Polesky, H.A., McCullough, J., Helgeson, M.A.,
Nelson, C.:
Evaluation of methods for the preparation of HLA-
antigen poor blood
Transfusion 13 : 383 - 387 (1973)
81. Prins, H.K., Loos, J.A.:
Studies on biochemical properties and viability of
stored red cells
in: Spielmann, W., Seidl, S.:
Modern problems of blood preservation
Int. symposium held at the Depart. of Immunhematology
and Blood Transfusion
J.-W.-Goethe Universität Frankfurt, March 17 - 18
Fischer Stuttgart 1970
82. Reesink, H.W., Veldmann, H., et al.:
Removal of leucocytes from blood fibre filtration
Vox. Sang. 42 : 281 - 288 (1982)
83. Rush, B., Lee, N.L.Y.:
Clinical presentation of non-hemolytic transfusion
reactions
Anaesth. Intens. Care 8 : 125 - 131 (1980)
84. Scanlon, J.W., et al.:
Hyperkalemia following exchange transfusion
J. Pediatr. 96 : 108 - 110 (1980)
85. Schleusner, A., Raderecht, Chr.:
Zur Anwendung tieftemperaturkonservierter Erythro-
cytenkonzentrate (TTK-EK) bei hämatologischen
Patienten
Folia Haematol. 108 : 813 - 818 (1981)

86. Schned, A.R., Silver, H.:
The use of microaggregate filtration in the
prevention of febrile transfusion reactions
Transfusion 21 : 675 - 681 (1981)
87. Schneider, W.:
Experience with an easy technique for the production
of leucocyte-, platelet-poor red blood cell
concentrates
Symposium No 34
Abstracts of the 18th Congress of the International
Society of Blood Transfusion
Munich, July 22 - 27, 1984
88. Schneider, W., Stützle, G.:
Neues Verfahren zur Herstellung von leukocyten-,
thrombocytenarmen Erythrocytensedimenten
Med. Welt 30 : 1597 - 1601 (1979)
89. Schricker, K.Th.:
Risiken der Transfusionsmedizin
Ahnefeld, F.W., et al. (Hrsg.):
in: Therapie mit Blutkomponenten
Reihe klinische Anaesthesiologie und Intensivmedizin
Band 21
Springer Berlin/Heidelberg/New York 1978
90. Schweizer, O., Howland, W.S.:
Potassium levels, acid-base balance and massive
blood replacement
Anesthesiology 23 : 735 - 740 (1962)
91. Seidl, S.:
Herstellung und Transfusion von tiefgekühlten Blut-
konserven
Infusionstherapie 4 : 88 - 91 (1977)

92. Sirchia, G., Parravicini, A., Rebullà, P.:
Prevention of non-hemolytic febrile transfusion
reaction in thalassemia
Symposium No 34
Abstracts of the 18th Congress of the International
Society of Blood Transfusion
Munich, July 22 - 27, 1984
93. Sirchia, G., Parravicini, A., Rebullà, P.,
Bertolini, F., et. al.:
Preparation of leucocyte-free platelets for trans-
fusion by filtration through cotton wool
Vox. Sang. 44 : 115 - 120 (1983)
94. Sirchia, G., Parravicini, A., Rebullà, P.,
Fattori, L., Milani, S.:
Evaluation of three procedures for the preparation
of leucocyte-poor and leucocyte-free red blood cells
for transfusions
Vox. Sang. 38 : 197 - 201 (1980)
95. Sirchia, G., Parravicini, A., Rebullà, P., Greppi, N.,
et al.:
Effectiveness of red blood cells filtered through
cotton wool to prevent anti-leucocyte antibody
production in multitransfused patients
Vox. Sang. 42 : 190 - 197 (1982)
96. Smit Sibinga, C.Th., et al.:
Is the clinical efficiency of leucocyte poor red
cells related to shelf-life?
Abstracts of the 18th Congress of the International
Society of Blood Transfusion
Munich, July 22 - 27, 1984

97. Sohmer, P.R., et al.:
The significance of 2,3-DPG in red blood cell
transfusions
CRC Critic. Rev. Clin. Lab. Sc. 11 : 107 - 174 (1979)
98. Stöckel, H., Stober, B.:
Zur Problematik der Massivtransfusionen mit ACD-Blut
Prakt. Anaesth. 5 : 237 - 239 (1970)
99. Storb, R., Kolb, H.J., et al.:
The effect of buffy-coat poor blood transfusion on
subsequent hemopoietic grafts
Transplantation 15 : 129 - 132 (1973)
100. Tadikonda, L.K. Rao:
Serum potassium levels following transfusion of
frozen erythrocytes
Anesthesiology 52 : 170 - 172 (1980)
101. Tenczar, F.J.:
Comparison of inverted centrifugation, saline
washing and dextran sedimentation in the preparation
of leucocyte-poor red cells
Transfusion 13 : 183 - 188 (1973)
102. Valeri, C.R., et al.:
Viability and function of red blood cell concentrates
stored at 4°C for 35 days in CPDA-1, CPDA-2 or
CPDA-3
Transfusion 22 : 210 - 216 (1982)

103. Valeri, C.R., Hirsch, N.:
Restoration of in vivo erythrocyte adenine triphosphate, 2,3-diphosphoglycerate, potassium ion and sodium ion concentrations following the transfusion of acid citrate dextrose stored human red blood cells
J. Lab. Clin. Med. 73: 722 - 733 (1969)

104. Van Kampen, E.J., Zijlstra, E.G.:
Standardization of hemoglobinometry. The extinction coefficient of hemoglobin-cyanide
Clin. Chim. Acta 6 : 538 (1961)

105. Wallace, J.:
Blood transfusions for clinicians
Churchill Livingstone 1977

106. Wallas, C.H.:
Sodium and potassium changes in blood bank stored human erythrocytes
Transfusion 19 : 210 - 215 (1979)

107. Ward, H.N.:
Pulmonary infiltrates associated with leuko-agglutinin transfusion reaction
Ann. intern. Med. 73 : 689 - 694 (1970)

108. Wells, J.V., King, M.A.:
Adverse reactions to human plasma proteins
Anaesth. Intens. Care 8 : 139 - 144 (1980)

109. Wendt, M., et al.:
Therapeutische Probleme bei Massivtransfusionen
Infusionsther. Klin. Ernährung 6 : 325 - 329 (1979)

110. Wenz, B., Apuzzo, J.H., et al.:
The preparation of leucocyte-poor red cells from
liquid stored blood:
an evaluation of the Haemonetics^R 102 cell washing
system
Transfusion 20 : 306 - 310 (1980)
111. Wenz, B., Gurtlinger, K.F., et al.:
Preparation of granulocyte-poor red blood cells
by microaggregate filtration
Vox. Sang. 39 : 282 - 287 (1980)
112. Wolf, C.F.W., Canale, V.C.:
Fatal pulmonary hypersensitivity reaction to HLA
incompatible blood transfusion.
Report of a case and review of the literature
Transfusion 16 : 135 - 140 (1976)

DANKSAGUNG

Hiermit möchte ich allen, die mich bei der Erstellung dieser Arbeit unterstützt haben, meinen Dank aussprechen:

Herrn Professor Dr. med. Wolfgang Mempel für die Überlassung des interessanten Themas,

Herrn Dr. med. Johann Mittermüller für die engagierte Betreuung und die wertvollen Ratschläge bei der Durchführung der Versuche und der Verfassung des Textes,

Herrn Dr. med. Marcel Heim für die Unterstützung und hilfreiche Diskussion,

den Mitarbeitern des Transfusionszentrums der Ludwig-Maximilians-Universität BSD/BRK für die praktische Anleitung bei den Versuchen,

sowie allen, die mit ihrer Blutspende diese Arbeit ermöglicht haben.

LEBENS LAUF

Name : Reinhard Glanzer
geboren : am 8.10.1958 in Mühldorf/Kärnten
Vater : Reinhard, Herrmann Glanzer, Bauingenieur
Mutter : Rosa Glanzer, geb. Egger, Hausfrau

- 1965 Einschulung in die Grundschule in Bayerbach/
 Rott, ab 1967 Besuch der Grundschule in
 Pocking
- 1969 Übertritt in das Gymnasium Pocking, Wahl des
 neusprachlichen Zweiges
- 1978 Abitur
 Beginn des Studiums der Humanmedizin an der
 Ludwig-Maximilians-Universität München
- 1980 Ablegung der Ärztlichen Vorprüfung
- 1981 Ablegung des 1. Abschnitts der Ärztlichen
 Prüfung
- 1982 Beginn der Arbeiten zu vorliegender Disser-
 tation
- 1984 Ablegung des 2. Abschnitts der Ärztlichen
 Prüfung
 Praktisches Jahr am Krankenhaus München-
 Schwabing (Innere Abteilung), Zentralklinikum
 Augsburg (Chirurgische Abteilungen) und an
 der Kinderklinik der Ludwig-Maximilians-
 Universität München
- 9.5.1985 Ablegung der Ärztlichen Prüfung

